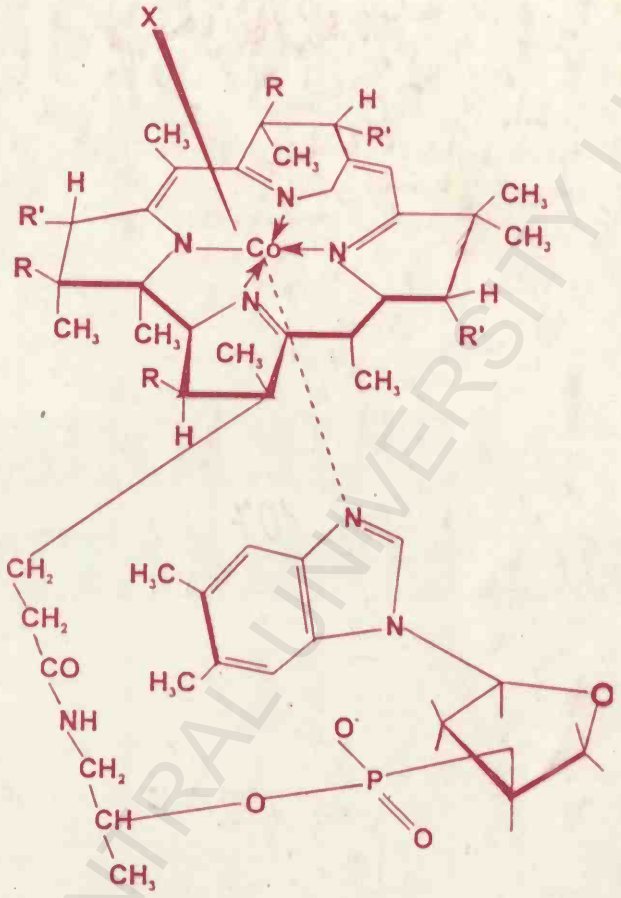
DUMITRU C. COJOCARU



BIOCHIMIA VITAMINELOR

242.107

Editura GAMA

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BIBL. CENTR. UNIV.
„M. EMINESCU" IAȘI
III 242. 107

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Conf. dr. DUMITRU C. COJOCARU

14580

BIOCHIMIA VITAMINELOR

Editura GAMA, Iași

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În cei 20 de ani de activitate, d-l conf. dr. Dumitru COJOCARU a acumulat o bogată experiență științifică și didactică în domeniul biochimiei. Activitatea științifică desfășurată în această perioadă este concretizată în peste 60 de lucrări publicate în reviste de prestigiu din țară și străinătate, două brevete de invenție, 8 contracte de cercetare științifică, numeroase comunicări științifice susținute la diferite simpozioane și congrese naționale și internaționale.

Datorită calităților și pregătirilor sale profesionale, d-l conf. dr. Dumitru Cojocaru are în față perspectiva generoasă a dezvoltării biochimiei românești, știință ce cunoaște pe plan mondial o evoluție dinamică cu numeroase implicații teoretice și practice.

Prof. univ. dr. Vlad G. ARTENIE
Catedra de Biochimie-Genetică-Microbiologie
Facultatea de Biologie
Universitatea "Al.I Cuza" Iași

Editura GAMA, Iași
șos. Păcurari, nr. 93
Tel.: 032/153840
Fax: 032/163846

11. 09. 1996
B. C. U. „M. EMINESCU"
— I A Ș I —
acu 779.787

Referenți științifici:
Prof. dr. Valeriu Șunel
Conf. dr. Elvira Tănase

Tehnoredactare computerizată:
CRISTI RADIȘ - Editura GAMA

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Prefață

Dezvoltarea rapidă a tuturor ramurilor biochimiei, înregistrată în ultimele decenii, a determinat schimbări profunde și în studiul vitaminelor.

Într-o perioadă relativ lungă de timp, studiul vitaminelor se rezuma, în principiu, la observații asupra surselor naturale ale acestor substanțe biologic active și respectiv asupra simptomelor de hipovitaminoză.

Astăzi, rolul biologic al vitaminelor este analizat mult mai profund, ținîndu-se cont de importanța lor în reglarea proceselor metabolice și a altor procese vitale pentru organismul viu.

Dacă malnutriția persistă de mult timp în țările în curs de dezvoltare, carențele vitaminice nu numai că n-au dispărut în țările industrializate, ci prezintă unele aspecte mult mai subtile și variate, afectînd în special nounăscuții, persoanele în vîrstă, alcoolicii, narcomanii etc. Din aceste motive, carențele vitaminice sînt astăzi mai actuale ca oricînd.

Medicina nutriției dispune în prezent de date științifice mult mai profunde asupra metabolismului vitaminelor, iar simptomele de carențe vitaminice pot fi explicate, înțelese și chiar prevenite în circumstanțe de risc. Aceste mutații profunde în studiul biochimiei vitaminelor nu ar fi fost posibile fără progresele înregistrate în domeniul metodelor de investigație biochimică și genetică.

Lucrarea de față sistematizează datele științifice referitoare la structura chimică a vitaminelor, rolul lor biologic, absorbția și metabolismul vitaminelor, sinteza chimică a unor vitamine, efectele hipo- și hipervitaminozelor etc, și are la bază cursul de "Biochimia vitaminelor și hormonilor" predat studenților anului III de la secția de Biochimie a Facultății de Biologie din cadrul Universității "Al.I. Cuza" Iași.

Ea se adresează în primul rînd studenților de la specializările Biochimie, Biotehnologie, Chimie Bioorganică, Ecologie, Biologie, dar și cadrelor didactice și cercetătorilor cu preocupări în domeniu.

Lucrările similare apărute în limba română, fie ca sînt depășite, fie că tratează pe larg aspectele medicale în timp ce aspectele pur biochimice sînt

abordate mult mai succint. De aceea, îmi exprim convingerea că lucrarea de față va suplini o lacună în literatura de specialitate în limba română și va răspunde exigențelor celor care o vor consulta.

Țin să mulțumesc pe această cale d-nei dr. Maria Stamatin, medic primar la Spitalul Clinic de Obstetrică și Ginecologie "Cuza Vodă" din Iași pentru ajutorul acordat în redactarea capitolelor referitoare la aspectele medicale ale simptomelor de hipo- și avitaminoză. Mulțumesc în același timp d-lui prof. dr. Vlad Artenie de la Universitatea "Al. I. Cuza" Iași pentru sprijinul moral acordat.

Aș fi deosebit de recunoscător specialiștilor și studenților din domeniile menționate mai sus pentru eventualele observații și sugestii referitoare la concepția și conținutul prezentei lucrări.

Autorul

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

I. SCURT ISTORIC. GENERALITĂȚI

Vitaminele reprezintă o clasă de substanțe organice extrem de heterogenă, din punct de vedere structural, cu rol de biocatalizatori, care sînt necesare organismelor vii în cantități foarte mici, dar care sînt indispensabile funcțiilor vitale.

Denumirea de "vitamină" a fost utilizată pentru prima dată în 1912 de către K. Funk care denumește astfel extractul obținut din tărîțele de orez folosit la tratarea păsărilor bolnave de polinevrită. După descoperirea mai multor vitamine în prima jumătate a secolului nostru, s-a constatat că nu toate aceste substanțe conțineau grupări aminice și ca atare această denumire este improprie. Fiind însă deja intrată în uz, continuă să fie utilizată și astăzi.

Simptomele unor carențe vitaminice au fost cunoscute și descrise de foarte mult timp fără a se cunoaște însă cauza acestora. Astfel diminuarea acuității vizuale a fost descrisă acum 3500 de ani, iar Hippocrate descrie simptomele scorbutului. Aceleași simptome sînt descrise și la soldații romani precum și la marinarii lui Vasco da Gama.

Primele observații științifice s-au făcut începînd cu anul 1890 cînd la soldații din Indiile Olandeze s-a înregistrat o incidență foarte crescută (25 %) a îmbolnăvirilor de beri-beri. Corelînd această rată crescută a bolii cu faptul că hrana soldaților era formată preponderent din orez decorticat, medicul Ch. Eijkman face unele experimente pe găini arătînd că păsările hrănite numai cu orez decorticat se îmbolnăveau de polinevrită. Faptul că simptomele bolii dispăreau după adăugarea în hrană a tărîțelor l-a determinat pe Eijkman să atribuie cauza bolii unor factori nutritivi și nu unuia microbiologic.

Pornind de la aceste constatări, Funk reușește în 1911 să izoleze principiul activ antinevritic din tărîțele de orez pe care îl numește "vitamină" (amina vieții).

Cercetări de amploare au demarat cîțiva ani mai tîrziu cînd starea sanitară și nutriția popoarelor s-a înrăutățit brusc în urma izbucnirii primei conflagrații mondiale și a crizelor care au urmat. Astfel, în Danemarca, în urma înlocuirii untului cu margarina, un mare număr de copii se îmbolnăveau de axeroftalmie, iar în Berlin și Viena, în perioada 1919-1922 trei sferturi din copiii de pînă la 3 ani prezentau rahitism.

În 1914, Collum și Davis izolează din unele extracte lipidice așa-numitul "factor de creștere liposolubil" care în 1916 este numit vitamină A de către Drummond. În 1931 i-a fost determinată structura chimică de către Karrer. Pînă în 1955 au fost descoperite majoritatea vitaminelor cunoscute astăzi: F (1929-1930); D_2 (1927-1932); K (1929-1934); acidul folic (1931); B_2 și biotina (1936); nicotinamida și acidul nicotinic (1937); B_6 (1938); tocoferolii (1943); B_{12} (1948); acidul lipoic (1951); B_{15} (1955) etc.

Odată cu creșterea numărului de vitamine izolate, purificate și caracterizate din punct de vedere structural și funcțional, conceptul de vitamină formulat de Funk și-a pierdut semnificația sa inițială, chiar dacă termenul "vitamină", deși incorect, se utilizează în continuare.

Actualmente se consideră că grupa vitaminelor include acele substanțe organice structural distincte care prezintă activitate biologică în doze foarte mici, nu constituie o sursă energetică sau plastică și sînt absolut necesare asigurării funcțiilor vitale.

Cu mici excepții, vitaminele sînt sintetizate de către microorganisme și plante și pătrund în organismul animal și uman odată cu hrana.

Datorită faptului că vitaminele alcătuiesc o clasă de compuși biologic activi extrem de heterogenă din punct de vedere structural și funcțional, clasificarea lor este foarte dificilă. Singurul criteriu de clasificare unanim acceptat astăzi îl constituie solubilitatea vitaminelor, în funcție de această proprietate distingîndu-se două clase:

a) vitamine liposolubile (A, D, E, F, K);

b) vitamine hidrosolubile (vitaminele complexului B, vitaminele C, P, PP etc).

După determinarea structurilor chimice și a funcțiilor lor fiziologice și biochimice, precum și după clarificarea căilor de degradare și biosinteză a vitaminelor, au fost introduse în terminologia biochimică și medicală și alte noțiuni. Astfel, precursorii vitaminelor, care sînt sintetizați în metabolismul intermediar și care prin transformări ulterioare dau naștere vitaminelor se numesc **provitamine**

Există substanțe organice, de regulă sintetice, care sînt înrudite structural cu anumite vitamine și manifestă aceeași activitate biologică cu acestea, pentru care se utilizează termenul de "analogi de vitamine" sau "vitamere".

Mai există însă substanțe cu o structură apropiată de cea a vitaminelor, dar care manifestă activități biologice total opuse. Aceste substanțe au primit numele de **antivitamine**

Stările patologice cauzate de lipsa totală din organism a unor vitamine se numesc **avitaminoze**, iar cele cauzate de insuficiența lor se numesc **hipovitaminoze**. În unele cazuri există stări patologice cauzate de excesul unor vitamine în organism, acestea primind numele de **hipervitaminoze**

Pentru vitaminele cunoscute pînă în prezent se folosesc mai multe denumiri:

a) **denumirea alfabetică** ce utilizează majuscule ale alfabetului latin (A, B, C, D, E, F etc). Odată cu creșterea numărului de vitamine cunoscute a început utilizarea unor indici (A_1, A_2,D_2-D_7, B_1-B_{15}, B_{12a}, B_{12b} etc);

b) **denumirea chimică** se bazează pe structura chimică a fiecărei vitamine (ergocalciferol, retinol, tocoferol, piridoxină);

c) **denumirea terapeutică** se bazează pe efectul farmacodinamic principal (vitamina antiscorbutică, vitamina antirahitică, vitamina antipelagroasă etc).

Ultimele două sisteme de nomenclatură au fost introduse pentru a se evita unele confuzii, dat fiind faptul că în unele cazuri (de exemplu vitaminele B_{1-15}) în cadrul aceleeași litere sînt cuprinse mai multe vitamine total diferite din punct de vedere structural și funcțional.

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

B.C.U. „M. EMINESCU" IAȘI

II. VITAMINELE LIPOSOLUBILE

II.1 VITAMINELE A (RETINOLII, VITAMINELE ANTIXEROFTALMICE, VITAMINELE CREȘTERII)

II.1.1 Generalități

Simptomele avitaminozei A sînt cunoscute din cele mai vechi timpuri. Astfel, hemeralopia a fost semnalată acum 3500 de ani. Tot în antichitate se cunoștea faptul că ingestia de ficat contribuie la îmbunătățirea vederii.

Corelația între capacitatea ochiului de a se adapta la întuneric și activitatea vitaminei A a fost însă demonstrată la începutul secolului XX. În experiențele pe șobolani, cărora li s-a administrat o dietă sintetică formată din proteine, glucide, slănină și săruri minerale, s-a observat o stopare a creșterii în greutate. După un anumit interval de timp, această stagnare a creșterii a fost însoțită de inflamații ale sistemului respirator și vizual. Aceste simptome dispăreau dacă la dieta sintetică se adăugau unele produse naturale (unt, ulei, gălbenuș de ou etc).

În urma acestor experimente s-a concluzionat că produsele alimentare naturale conțin un factor de creștere, indispensabil vieții, numit de către Mc Collum în 1914 "factor liposolubil A", pe care Drummond, în 1916, îl numește "vitamina A".

Corelația între carența clinică și cea experimentală de vitamină A a fost făcută prima dată în timpul primului război mondial cînd s-a observat că xeroftalmia la om se datora scăderii ponderii untului în alimentație.

Vitamina A a fost izolată de către P. Karrer în 1931, cînd i s-a determinat structura chimică, iar în 1937 s-a realizat prima sinteză chimică a acestei vitamine.

Produsele alimentare de origine animală (untul, ficatul, gălbenușul de ou, laptele, uleiul de pește etc) sînt mult mai bogate în vitamină A comparativ cu produsele vegetale.

În 1938, P.Karrer și H.Euler observă că pigmenții vegetali din clasa carotenilor au același efect fiziologic ca și vitamina A, iar Th. Moore demonstrează că preparatele de caroteni administrate animalelor avitaminizate

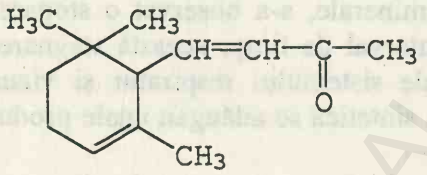
sînt convertite de organismul animal în vitamina A. S-a concluzionat că aceste substanțe joacă rol de precursori ai vitaminei A *in vivo*.

II.1.2. Structura chimică a provitaminelor și vitaminelor A

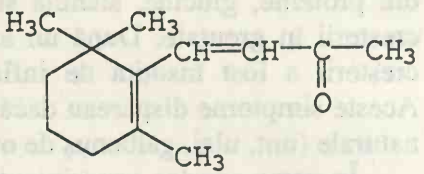
Dintre precursorii naturali ai vitaminelor A, cei mai importanți sînt α-, β- și γ-carotenii, criptoxantina, mixoxantina, afanina, leprona, echinenona etc.

Carotenoizii sînt compuși naturali des întîlniți în organismele vegetale și mai puțin în cele animale. Sînt substanțe cu structură polienică, iar numărul mare de legături duble conjugate le conferă culori diferite care variază de la galben la portocaliu și respectiv de la roșu la violet. Aceleași legături duble din catena polienică, conferă carotenoizilor izomerie cis-trans, majoritatea acestora prezentînd configurație all-trans.

La cele două extremități ale catenei polienice se află cîte un nucleu iononic. Condiția obligatorie ca un carotenoid să poată îndeplini rol de provitamină A este ca cel puțin una din extremități să prezinte un nucleu β-iononic. La cealaltă extremitate se poate afla un nucleu α-iononic, β-iononic sau pseudoiononic:



α–ionona

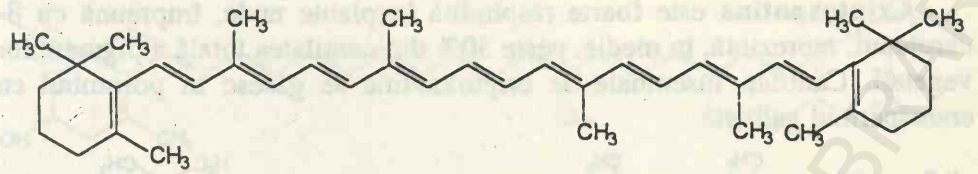


β–ionona

β-Carotenul este cel mai important precursor al vitaminei A. El se găsește în cloroplaste împreună cu clorofila, fie sub forma unor complecși proteici hidrosolubili, fie sub formă de picături lipidice.

Prezența acestuia în frunze este mascată de către clorofilă și doar toamna, după degradarea acesteia, frunzele își modifică culoarea în funcție de conținutul în caroteni. O cantitate apreciabilă de β-caroten se găsește în morcovi unde reprezintă aproximativ 30 % din totalul carotenoizilor, față de 1 % pentru α-caroten și respectiv 0,1 % în cazul γ-carotenului.

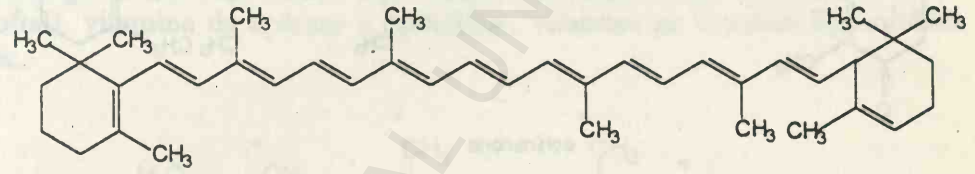
β-Carotenul pur este o substanță cristalină, galben-portocalie, insolubilă în apă, solubilă în solvenți organici, optic inactivă. Dintr-un amestec de metanol și benzen, β-carotenul cristalizează sub formă de tablete violet închis, cu punct de topire la 184°C.



β–caroten

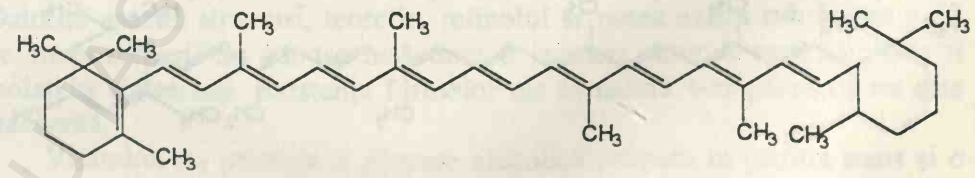
α-Carotenul se deosebește de β-caroten prin faptul că la una din extremități prezintă un ciclu α-iononic și este un compus optic activ. Se găsește în plante de regulă alături de β-caroten, deși în unele plante lipsește (spanac, urzică, orz etc). Din amestecul metanol-benzen, α-carotenul cristalizează sub formă de prisme de culoare cărămizie, care prin uscare trec în roșu-violet.

α-Carotenul are punctul de topire la 188,5°C și se distruge foarte greu prin încălzire, în absența oxigenului. În schimb acizii sau oxigenul îl degradează extrem de ușor.



α–caroten

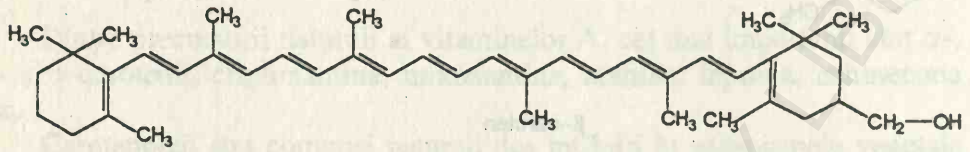
γ-Carotenul însoțește, de asemenea, β-carotenul în plante unde se găsește însă în cantități mult mai mici. În unele cazuri (*Cuscuta salina*) cantitatea de γ-caroten poate fi mult mai mare decît cea a β-carotenului. Cristalizează sub formă de ace grupate în snopi și are punctul de topire la 178°C. Poate fi separat de carotenoizi prin cristalizare cu un amestec de alcool și sulfură de carbon.



γ–caroten

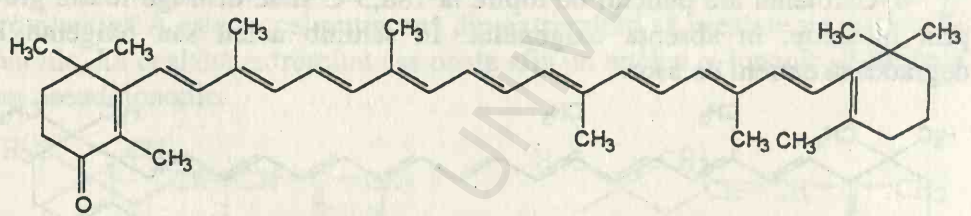
BCU CLUJ CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Criptoxantina este foarte răspîndită în plante unde, împreună cu β-carotenul, reprezintă, în medie, peste 30% din cantitatea totală a pigmenților vegetali. Cantități însemnate de criptoxantină se găsesc în porumbul cu endospermul galben.



criptoxantina

Echinenona a fost izolată prima dată din gonadele ariciului de mare, ulterior fiind identificată și la alte nevertebrate și alge marine. Nu se cunoaște încă dacă animalele marine sînt capabile să sintetizeze echinenona sau o primesc din algele cu care se hrănesc.

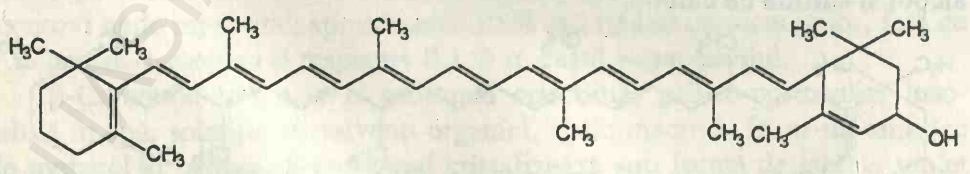


echinenona

Din unele *Cyanophyceae* au fost izolate afanina, afanicina, afanizofila și flavocina. Mai tîrziu s-a stabilit că afanina și mixoxantina sînt identice cu echinenona.

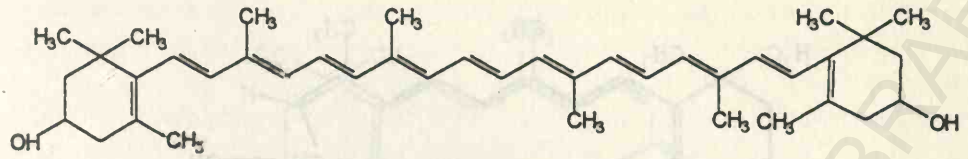
În frunzele plantelor se mai găsesc cantități relativ mari de xantofilă și în cantități mult mai mici zeaxantină.

Din tomate s-a izolat licopina, un carotenoid aciclic care conține 13 legături duble, din care 11 sînt conjugate. Ulterior licopina a fost identificată și în fructele de măceș, în pepeni, caise, ardei, piersici etc.

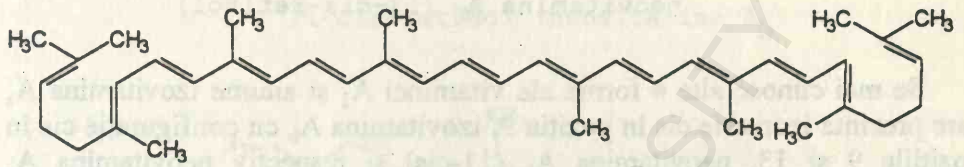


xantofila (luteina)

BCU IASI STAB UNIVERSITY LIBRARY

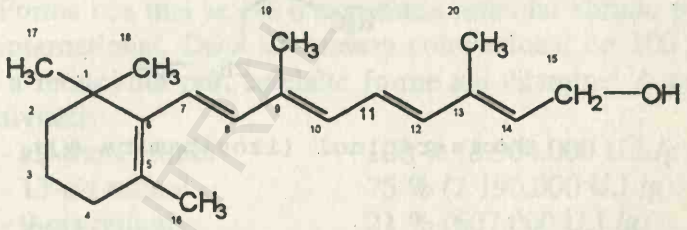


zeaxantina



licopina

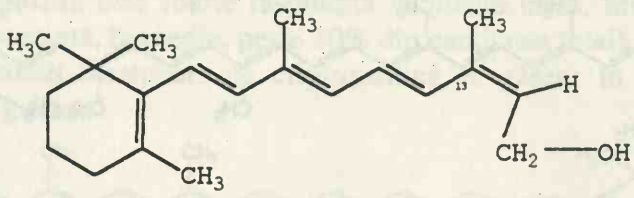
Vitaminele A pot exista sub mai multe forme structurale. Forma alcoolică (vitamina A_1) se numește retinol. În funcție de unele acțiuni fiziologice, vitamina A_1 se mai numește vitamina antixeroftalmică (axeroftal), vitamina de apărare a epiteliilor, vitamina de creștere liposolubilă etc.



vitamina A_1-(retinol)

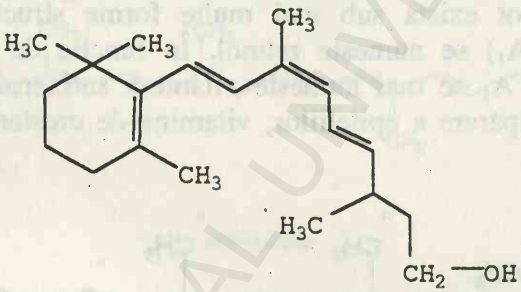
Structural, retinolul conține 5 legături duble conjugate, din care 4 în catena laterală polienică și 5 grupe metil din care 3 la ciclul β-iononic. Datorită acestei structuri, teoretic, retinolul ar putea exista sub forma a 32 de stereozomeri. Se cunosc însă doar 6 izomeri naturali care au putut fi izolați și sintetizați. Existența formelor cis în natură s-ar părea că nu este frecventă.

Vitamina A_1 prezintă o grupare alcoolică primară în poziția trans și o configurație all-trans (trans-trans) a catenei polienice, spre deosebire de neovitamina A_a la care gruparea alcoolică este în poziție cis:

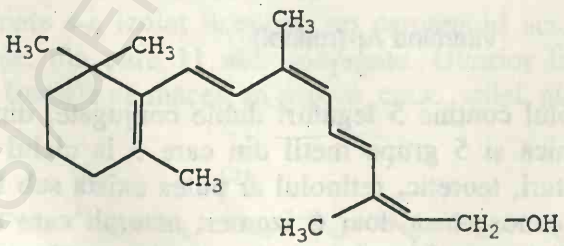


neovitamina A_a (13-cis-retinol)

Se mai cunosc alte 4 forme ale vitaminei A_1 și anume izovitamina A_a care prezintă izomerie cis în poziția 9, izovitamina A_b cu configurație cis în pozițiile 9 și 13, neovitamina A_b (11-cis) și respectiv neovitamina A_c (11,13-di-cis):

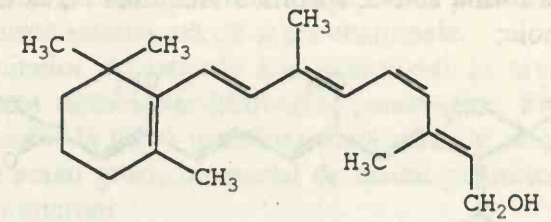


9-cis-retinol (izovitamina A_a)

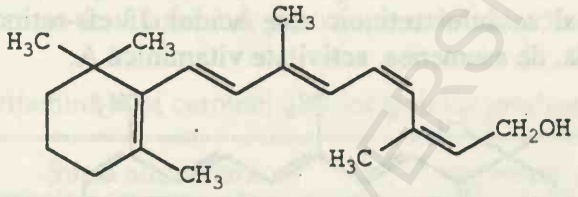


9,13-dicis-retinol (izovitamina A_b)

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



11-cis-retinol (neovitamina A_b)

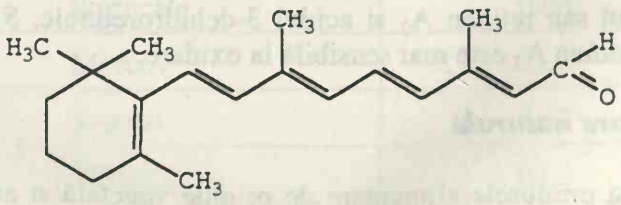


11,13-dicis-retinol (neovitamina A_c)

Toți izomerii all-trans ai retinolului manifestă o înaltă activitate biochimică. Forma cea mai activă o constituie retinolul chimic pur, utilizat ca standard internațional. Dacă se notează convențional cu 100 % activitatea biologică a retinolului pur, celelalte forme ale vitaminei A prezintă următoarele activități:

- all-trans retinol	100 % (3.904.000 U.I./g)
- 13-cis retinol	75 % (2.190.000 U.I./g)
- 9-cis retinol	21 % (607.000 U.I./g)
- 9,13-di-cis retinol	24 % (688.000 U.I./g)
- 11-cis retinol	24 % (690.000 U.I./g)
- 11,13-di-cis retinol	15 % (428.000 U.I./g).

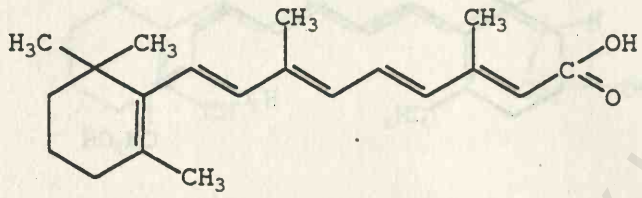
În procesul vederii, un rol important îl joacă aldehida retinolului - retinalul:



retinal

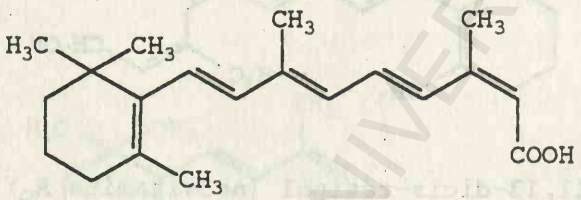
BCU IASI UNIVERSITY LIBRARY

Este posibil ca forma activă, specifică vitaminei A, să fie forma acidă, denumită acid retinoic:



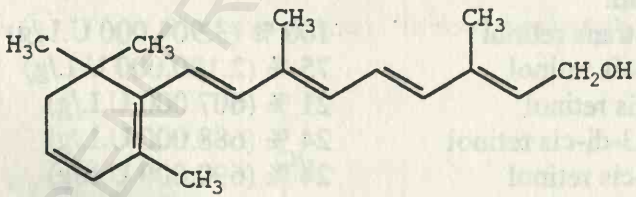
acid retinoic

Un izomer al acidului retinoic este acidul 13-cis-retinoic sau izotretioină care posedă, de asemenea, activitate vitaminică A:



izotretioina (acid 13-cis-retinoic)

Din uleiul de pește a fost izolat 3-dehidroretinolul sau vitamina A_2. Ulterior aceasta a fost obținută și pe cale sintetică:



vitamina A_2 (3-dehidroretinol)

Se cunosc, de asemenea doi derivați ai vitaminei A_2 și anume 3-dehidroretinalul sau retinen A_2 și acidul 3-dehidroretinoic. Spre deosebire de retinol, vitamina A_2 este mai sensibilă la oxidare.

II.1.3 Stare naturală

Furajele și produsele alimentare de origine vegetală și animală conțin atît vitamina A cît și precursorii acesteia.

Animalele ierbivore primesc carotenoizii din hrană, aceștia fiind apoi

convertiți în retinol. Animalele carnivore și omul primesc prin hrană atît vitamina A sub formă esterificată cît și provitaminele.

Esterii vitaminelor A naturale sînt hidrolizați la nivelul intestinului subțire sub acțiunea retinolester-hidrolazei pancreatice. Sub formă liberă, retinolul este absorbit la nivel intestinal după care, în microsomi este din nou esterificat de acizii grași, în special de acidul palmitic, acumulîndu-se sub formă de chilomicroni.

Cea mai mare cantitate de vitamină A se găsește în untura peștilor marini. Ea provine din planctonul care formează hrana acestora. Cantități mari de vitamină A se mai găsesc în ficat, mușchi, gălbenușul de ou, unt etc. Uleiurile vegetale, untura, margarina, seul, carnea grasă etc. nu conțin vitamină A.

Principalele surse de vitamină A pentru om sînt redate în tabelul I.

Tabelul I

Conținutul în vitamină A și caroteni al principalelor produse alimentare

Nr.crt.	Sursa alimentară	mg vitamină A/100 g
1.	Untură de pește	2.800
2.	Icre crude	3,5-4,0
3.	Unt	3,0-3,5
4.	Lapte de vacă	0,1-0,2
5.	Gălbenuș de ou	5,0
6.	Ficat	60,0
7.	Pește	10,0
		mg caroteni/100 g
8.	Pepene galben	3,42
9.	Caise	2,79
10.	Portocale	0,06
11.	Morcov	12,0
12.	Spanac	9,42
13.	Cartofi	0,02
14.	Mălai	0,4

II.1.4 Proprietățile provitaminelor și vitaminelor A

Carotenii sînt substanțe solubile în grăsimi și solvenți organici și insolubile în apă. Datorită gradului înalt de nesaturare carotenoizii se oxidează foarte ușor în prezența luminii și în contact cu aerul.

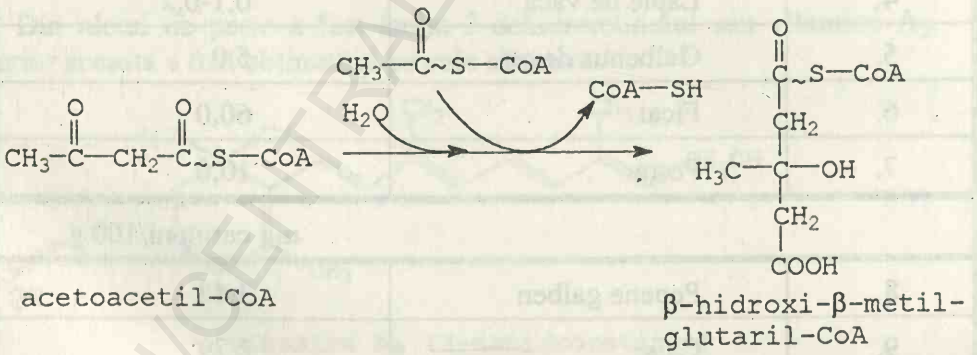
Stereoizomerii carotenoizilor se pot diferenția prin spectrul de absorbție și pot fi separați prin cromatografie pe coloană deoarece prezintă viteze diferite de migrare.

Retinolul este relativ termostabil în prezența oxigenului, este insolubil în apă și ușor solubil în clorofom, benzen, acetonă, metanol, eter etilic și lipide. Din soluția metanolică, retinolul cristalizează la temperaturi foarte joase cu formare de cristale de culoare galbenă. Retinolul și dehidroretinolul devin mult mai stabile sub forma soluțiilor lipidice.

II.1.5 Metabolismul vitaminelor A

În toate țesuturile vegetale există o serie de carotenoizi care diferă între ei prin raportul masic C/H. Aceștia au drept precursor comun fitenul ($C_{40}H_{64}$), care la rîndul său provine din acetil-CoA, produs intermediar al catabolismului glucidic, lipoidic și chiar proteic.

Experiențele cu acetat marcat au demonstrat că prin condensarea succesivă a trei molecule de acetil-CoA se formează acidul mevalonic:

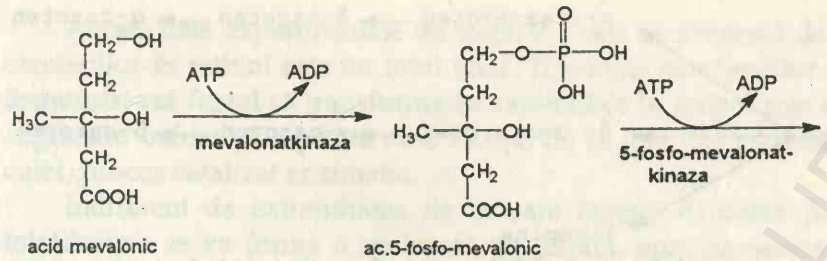


acetoacetil-CoA

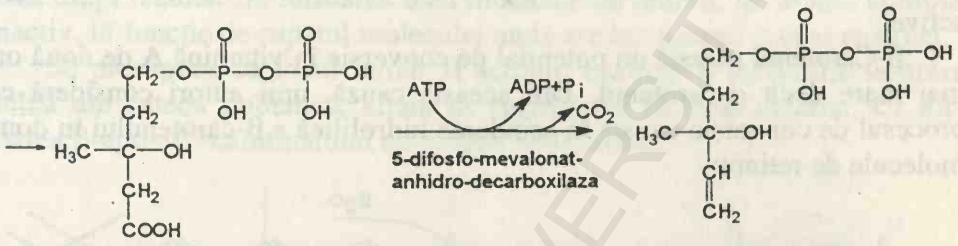
β-hidroxi-β-metil-glutaril-CoA

În urma hidrolizei legăturii macroergice se formează acidul β-hidroxi-β-metil-glutaric care, în urma unor procese de oxido-reducere, trece în acid mevalonic.

Sub acțiunea unei kinaze specifice, mevalonatul este fosforilat succesiv la gruparea alcoolică primară cu formarea, în final, a izopentenil-pirofosfatului, forma activă a izoprenului:

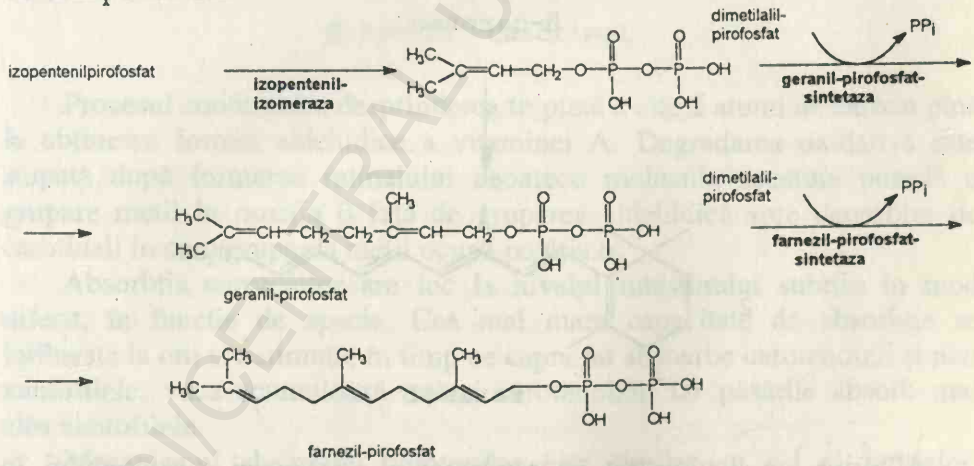


acid mevalonic — ac.5-fosfo-mevalonic



ac.5-difosfo-mevalonic — izopentenilpirofosfat

Sub acțiunea izopentenilizomerazei, izopentenil-pirofosfatul trece în dimetilalilpirofosfat care, prin condensare, trece în geranilpirofosfat, apoi în farnezilpirofosfat:

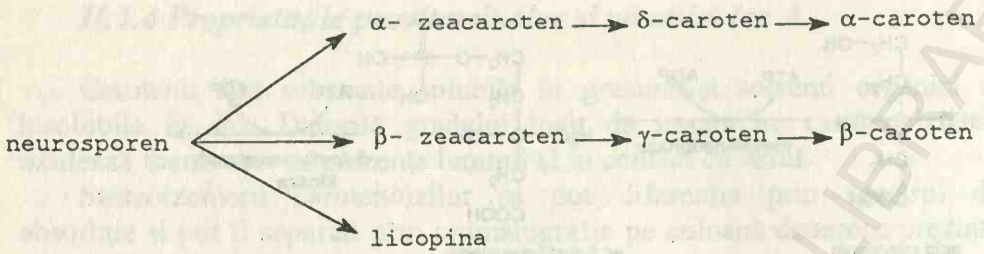


farnezil-pirofosfat

Căile de conversie a farnezilpirofosfatului în caroteni nu sînt pe deplin elucidate. Unii autori consideră că unul din precursorii ciclici ai carotenilor este licopersina, un compus nesaturat cu 40 atomi de carbon, ce se formează din patru molecule de geranilpirofosfat.

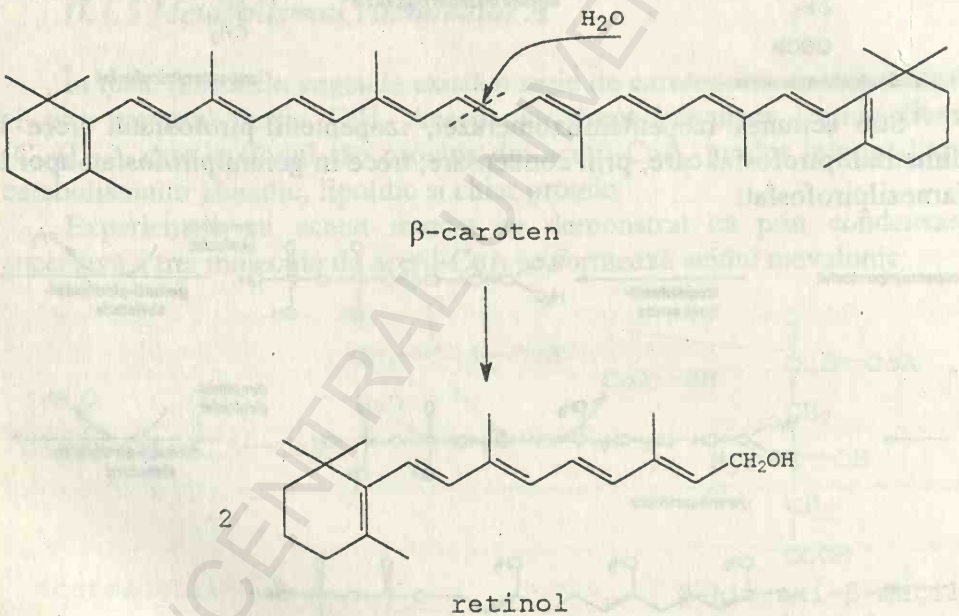
Alți autori, în experiențe cu cloroplaste izolate, demonstrează că ciclizarea are loc la nivelul licopinei.

Experiențele pe *Chlorella vulgaris* arată că licopina se formează din neurosporen, alături de caroteni:



Dacă hrana animalelor și omului nu conține vitamină A, aceste organisme sînt capabile să o sintetizeze prin conversia provitaminelor A biologic active.

β-Carotenul posedă un potențial de conversie în vitamină A de două ori mai mare decît α-carotenul. Din această cauză, unii autori consideră că procesul de conversie constă în scindarea hidrolitică a β-carotenului în două molecule de retinol:



Ulterior s-a demonstrat că randamentul conversiei γ-carotenului în retinol este de patru ori mai scăzut decît în cazul β-carotenului. Pe de altă parte, din intestinul cabalinelor au fost izolați și identificați o serie de compuși cu structură aldehidică (β-apo-8'-; β-apo-10'- și β-apo-12'-carotinali). Introducerea acestora în organismul animalelor avitaminizate era însoțită de conversia în vitamină A și însănătoșirea animalelor.

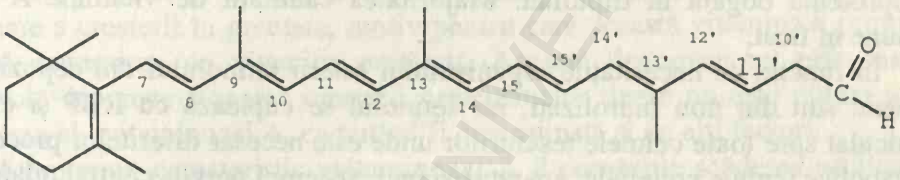
În același timp, cantități egale de β-caroten și vitamină A prezintă activități biologice diferite, în sensul că retinolul este de două ori mai activ.

BCU "V.I. CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Aceste date experimentale au sugerat ideea că procesul de conversie a carotenilor în retinol este cu totul altul. Existența carotinalilor intermediari demonstrează faptul că transformarea carotenilor în retinol este un proces de degradare oxidativă repetată care începe de la una din extremitățile moleculei, proces catalizat enzimatic.

Indiferent de extremitatea de la care începe oxidarea β-carotenului, întotdeauna se va forma o moleculă de retinol, spre deosebire de α- și γ-caroteni (cu un singur ciclu β-ionononic) la care degradarea oxidativă poate avea drept rezultat fie formarea unei molecule de retinol, fie a unui compus inactiv, în funcție de capătul moleculei unde are loc primul atac al enzimei.

Se presupune că locul inițial al acțiunii enzimei îl constituie legătura dublă din catena polienică, aflată în vecinătatea ciclului ionononic, cu formarea β-apo-10'-carotinalului ca produs intermediar:



β-apo-10'-carotinal

Procesul continuă cu desprinderea treptată a cîte 2 atomi de carbon pînă la obținerea formei aldehidice a vitaminei A. Degradarea oxidativă este stopată după formarea retinalului deoarece molecula acestuia posedă o grupare metil în poziția β față de gruparea aldehidică spre deosebire de carotinali în care gruparea metil ocupă poziția α.

Absorbția carotenilor are loc la nivelul intestinului subțire în mod diferit, în funcție de specie. Cea mai mare capacitate de absorbție se întîlnește la om și maimuță, în timp ce capra nu absoarbe carotenoizii și nici xantofilele; vaca acumulează numai carotenoizii, iar păsările absorb mai ales xantofilele.

Mecanismul absorbției carotenilor este similar cu cel al lipidelor, necesitînd prezența lipazei pancreatice și a bilei pentru emulsionare.

Mult timp s-a considerat că procesul conversiei carotenilor în vitamină A are loc în ficat. Experiențele *in vivo* efectuate prin injectarea suspensiilor coloidale de caroten, intravenos, subcutanat și intramuscular nu au confirmat această ipoteză. Prin administrarea carotenului direct în intestinul subțire al oilor și caprelor s-a constatat că acesta nu este prezent în sîngele venei porte, unde a fost detectat în schimb retinolul. Aceasta înseamnă că transformarea carotenilor în retinal are loc la nivelul peretelui intestinal. Tot

aici are loc și reducerea formei aldehidice cu formare de retinol, sub acțiunea retinenreductazei. Prin utilizarea tehnicii legăturilor venei porte s-a demonstrat că la suine, ovine, bovine etc. acest proces are loc la nivelul duodenului.

La om se pare însă că singurul organ capabil să realizeze această conversie este ficatul.

Vitaminele A naturale din alimente pătrund în organism sub formă esterificată sau liberă (retinol și/sau retinal). Esterii retinolului sînt hidrolizați în intestinul subțire sub acțiunea retinolesterhidrolazei pancreatice, enzimă activată de sărurile biliare. După absorbție, retinolul trece din nou în formă esterificată, de regulă cu acidul palmitic. Sub această formă este transportat pe cale limfatică spre organele de depozitare, cu ajutorul unei proteine de transport specifice (retinol-binding-protein, RBP), care este o lipoproteină bogată în triptofan. Majoritatea cantității de vitamină A se depune în ficat.

În funcție de necesitățile organismului esterii retinolului din depozitul hepatic sînt din nou hidrolizați, iar retinolul se cuplează cu RBP și este vehiculat spre toate celulele țesuturilor unde este necesar diferitelor procese metabolice (celule epiteliale, aparatul vizual, sistemul nervos central, glande endocrine etc.) menținîndu-se în același timp o concentrație sanguină normală (100-200 U.I./100 ml).

Mulți autori consideră că nu forma alcoolică a vitaminei A este biologic activă, ci retinalul, acidul retinoic și derivații acestuia. Retinalul se reduce la retinol sub acțiunea unei reductaze nespecifice NADH sau NADPH-dependente. Retinolul provenit din alimente este oxidat, cel puțin parțial, la acid retinoic. În urma acestor procese oxidative se formează β-glucuronidele acidului retinoic participante la circulația enterohepatică. Eliminarea din organism se face prin fecale. În mod normal urina nu conține vitamină A. Aceasta poate apare în urină în unele cazuri patologice cum ar fi nefrita cronică.

II.1.6 Sinteza chimică a vitaminei A

Preparatele farmaceutice de vitamine A se obțin, de obicei, din ficatul peștilor marini și mamiferelor. Creșterea necesarului de vitamine A, mai ales datorită utilizării în zootehnie, a condus la elaborarea unor tehnologii de obținere industrială a acestor preparate. Materia primă pentru sinteza chimică a vitaminei A o constituie amestecul de α- și β-iononă obținut prin extracție din uleiul de coriandru.

De-a lungul timpului s-au aplicat mai multe metode de sinteză chimică a diferitelor preparate cu activitate vitaminică A. O primă tehnologie,

utilizată în anii '40 se baza pe condensarea β-iononei cu săruri ale acidului γ-bromcrotonic. A urmat apoi o tehnică bazată pe transformarea citratului în β-iononă, iar sinteza propriu-zisă consta într-o succesiune de transformări de tip Grignard.

Astăzi se folosesc mai multe modificări ale tehnologiilor de bază, iar protejarea vitaminei A față de acțiunea oxidantă a aerului se face realizînd transformările sub azot.

II.1.7 Rolul biologic al vitaminelor A

Carența vitaminei A din alimentație determină starea de hipovitaminoză A, iar în cazuri acute, de avitaminoză A, caracterizată printr-o multitudine de simptome.

Printre altele, la animalele de experiență avitaminizate s-a observat o stagnare a creșterii în greutate, motiv pentru care această vitamină a primit inițial denumirea de vitamina creșterii. Această denumire nu este însă adecvată deoarece stoparea creșterii organismelor tinere nu este numai un simptom al avitaminozei A, ea putînd fi determinată și de alți factori.

Simptomul caracteristic avitaminoxei A îl constituie scăderea acuității vizuale și diminuarea capacității ochiului de a se adapta la lumina crepusculară. Acest lucru se explică prin participarea vitaminei A în procesul vederii. Pentru ca lumina externă să excite sistemul nervos în vederea formării imaginilor, ea este absorbită de pigmenții vizuali conținuți în conurile și bastonașele retiniene.

Sub acțiunea luminii, acești pigmenți suferă unele transformări chimice specifice. Principalii pigmenți retinieni sînt *rodopsina* și *porfiropsina* din bastonașe și respectiv *iodopsina* și *cianopsina* din celulele sub formă de conuri.

Rodopsina este o heteroproteină formată din opsină (componenta proteică) și 11-cis-retinal în calitate de grupare prostetică. În acest complex, retinalul conține două legături duble în conformație cis, iar retinalul rezultat prin descompunerea rodopsinei are conformație trans. Această transformare este ireversibilă. Din această cauză, este nevoie de un aport continuu de retinal din sînge (figura 1).

Sub acțiunea unui stimul de origine încă necunoscută, retinol-esterhidrolaza eliberează retinolul din esterii săi acumulați în chilomicronii sanguini. Acesta se leagă imediat de pRBP (*plasmatic Retinol Binding Protein*) în vederea vehiculării.

La nivelul ficatului retinolul poate fi transformat pe trei căi:

- oxidare reversibilă în retinal; acesta este transportat parțial în globul ocular, iar restul oxidat în continuare în acid retinoic. Acidul retinoic nu

este stocat și prezintă activitate vitaminică A parțială. În particular, acidul retinoic nu participă în procesul vederii și reproducerii;

- fosforilare cu formare întîi de retinol-fosfat, apoi retinol-fosfat-manoză care intervine în biosinteza glicoproteinelor;
- transformare în glicuroconjugate excretate în bilă.

Trans-retinalul format conform primei căi este redus la trans-retinol sub acțiunea retinoldehidrogenazei NAD^+-dependente, acesta trece apoi în 11-cis-retinol sub acțiunea retinolizomerazei, după care se reoxidează cu formare de 11-cis-retinal sub acțiunea retinoldehidrogenazei NAD^+-dependente. Sub această formă vitamina A este transportată la nivelul globului ocular unde se combină cu opsina (incoloră) cu formare de rodopsină (roșie). Această transformare are loc la întuneric.

Participarea vitaminei A în procesul vederii este prezentată schematic în figura nr.1.

În segmentul extern al bastonașelor din retină are loc izomerizarea 11-cis-retinalului din structura rodopsinei în trans-retinal. Procesul este însoțit de modificări conformaționale care duc la decolorarea rodopsinei datorită clivării trans-retinalului de opsină.

S-a constatat că vitamina A este implicată nu numai în procesul propriu-zis al vederii, ci și în stabilizarea opsinei și protecția celulelor retiniene împotriva deteriorării.

În condiții fiziologic normale există un echilibru între scindarea și refacerea rodopsinei, precum și între cele două forme ale vitaminei A (retinol = retinal) fapt ce implică schimbări și cerințe continue de vitamină A.

În unele stări fiziopatologice cum ar fi glaucomul cu cataractă, diabet, boli hepatice, albinism, intoxicații alcoolice și cu metale grele (Pb, Mn, Cu, As etc.), precum și în graviditate, apar dezechilibre între retinol și retinal, fără să existe carență de vitamină A. Acest dezechilibru este cauzat de un deficit enzimatic ce necesită cofactori vitaminici (vitamină B_1, B_2, B_6) care participă alături de vitamina A la procesul biochimic al vederii.

În afara participării în procesul vederii, vitamina A mai îndeplinește și alte funcții în organismul animal. Astfel, s-a demonstrat că retinolul este necesar și pentru menținerea stării normale a epiteliilor. La animalele de experiență avitaminizate s-au constatat, printre altele, modificări progresive ale epiteliilor care se transformau în epitelii keratinizate. Din acest punct de vedere a fost demonstrată acțiunea acidului retinoic asupra glandelor sebacee datorită existenței unor receptori specifici la acest nivel.

Vitamina A mai contribuie la formarea smaltului și a dentinei, precum și la menținerea fertilității și a stării morfo-funcționale normale a organelor de reproducere.

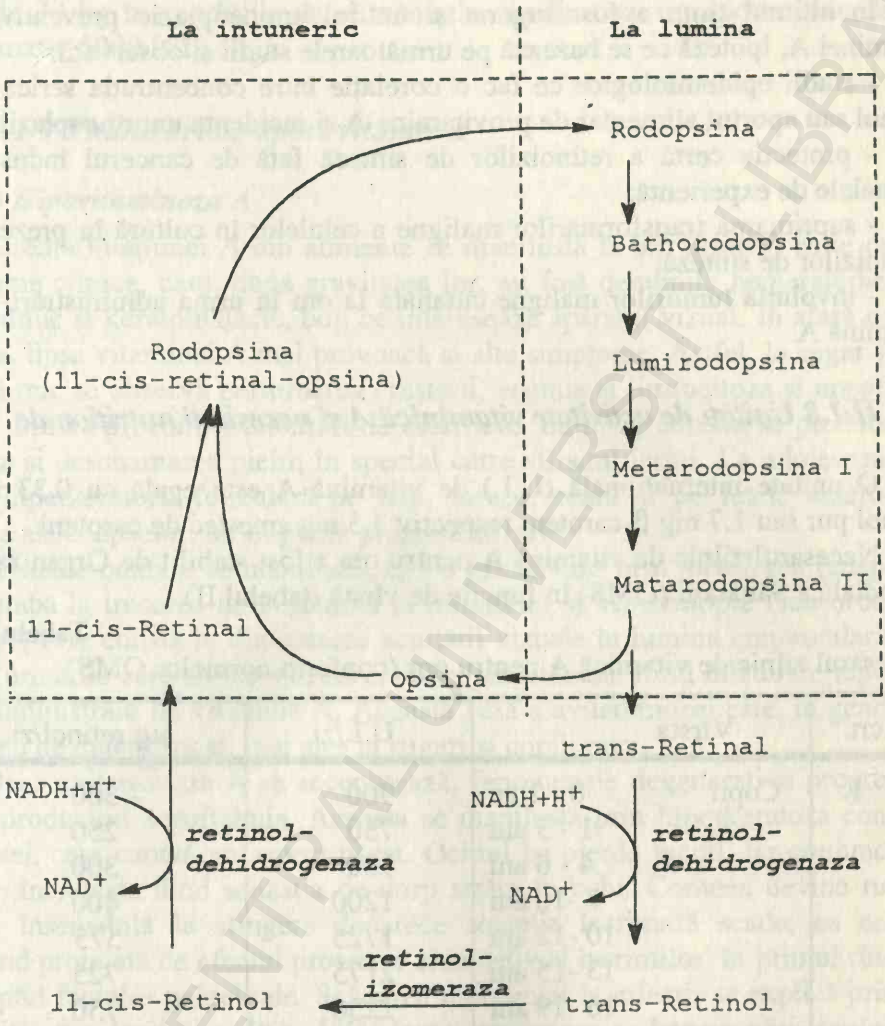


Figura nr.1 *Participarea vitaminei A în procesul vederii*

Numeroase alte funcții la nivel celular ale vitaminei A pot fi explicate prin stimularea biosintezei de ARN_m demonstrată pentru unele țesuturi. În felul acesta, biosinteza anumitor proteine este, de asemenea, dependentă de vitamina A. A mai fost demonstrat rolul retinolului în diviziunea celulară, în secreția de mucus, stimularea imunitară, spermatogeneză etc.

Există numeroase ipoteze privind rolul vitaminei A în stabilitatea membranelor celulare, în stimularea biosintezei citocromului P_{450}, în reglarea metabolismului hormonilor steroizi etc. fără ca aceste funcții să fie demonstrate experimental.

BCU "I. CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În ultimul timp a fost sugerat și un rol antineoplazic preventiv al vitaminei A, ipoteză ce se bazează pe următoarele studii și observații:

- studii epidemiologice ce fac o corelație între concentrația serică de retinol sau aportul alimentar de provitamine A și incidența unor neoplazii;
- protecția certă a retinoizilor de sinteză față de cancerul indus la animalele de experiență;
- suprimarea transformărilor maligne a celulelor în cultură în prezența retinoizilor de sinteză;
- involuția tumorilor maligne cutanate la om în urma administrării de vitamină A.

II.1.8 Unități de activitate vitaminică A și necesități nutriționale

O unitate internațională (U.I.) de vitamină A este egală cu 0,33 mg retinol pur sau 1,7 mg β-caroten, respectiv 3,5 mg amestec de caroteni.

Necesarul zilnic de vitamină A pentru om a fost stabilit de Organizația Mondială a Sănătății (OMS) în funcție de vîrstă (tabelul II).

Tabelul II

Necesarul zilnic de vitamină A pentru om (conform normelor OMS)

Nr.crt.	Vîrsta		U.I./zi	μg retinol/zi
1.	Copii	0 - 1 an	900	– 300
		1 - 3 ani	750	250
		4 - 6 ani	900	300
		7 -10 ani	1200	400
		10 -12 ani	1725	575
		13 -15 ani	2175	725
		16 -19 ani	2250	750
2.	Adulți		2250	750
3.	Femei care alăptează		3600	1200

Acest aport este considerat ca fiind necesarul zilnic minim de vitamină A de origine alimentară pentru menținerea unui nivel normal de retinol în organism.

Necesitățile organismului în vitamină A mai depind însă și de alți factori cum ar fi sexul, starea fiziologică etc. Astfel, se consideră că bărbatul prezintă un necesar de vitamină A superior necesarului zilnic al femeii.

Datele din literatura de specialitate privind cerințele organismului uman sînt relativ diferite. Comitetul de experți OMS recomandă pentru un

adult de 70 kg în condițiile de alimentație din Europa, un aport zilnic de aproximativ 5000 U.I.

II.1.9 Tulburări de aport vitaminic

a) Hipovitaminoza A

Carența vitaminei A din alimente se manifestă la om printr-o serie de simptome clinice, care, după gravitatea lor, au fost denumite hemeralopie, xeroftalmie și keratomalacie, boli ce interesează aparatul vizual. În afară de acestea, lipsa vitaminei A mai provoacă și alte simptome. Astfel, la sugar și copilul mic se observă perturbarea creșterii, anemia și limfocitoza și uneori litiaza urinară precum și tulburări de calcifiere. La nivel cutanat se produce uscarea și descuamarea pielii, în special către sfîrșitul iernii. La adolescent apare hiperkeratoza foliculară pe față, torace, ceafă și pe fețele antero-laterale ale coapselor, iar unghiile prezintă striuri.

Semnele oculare se manifestă, într-o primă fază prin *nictalopie* (adaptarea slabă la trecerea de la lumină la întuneric) și *hemeralopie* (sau orbul găinilor) care constă în diminuarea acuității vizuale în lumina crepusculară. Transformările care au loc sînt reversibile, simptomele fiind înlăturate rapid prin administrare de vitamină A. Această fază a avitaminozei este, în general, greu de diagnosticat, mai ales la sugari și copiii mici.

Dacă avitaminoza A se accentuează, fenomenele degenerative progresează producînd xeroftalmia. Aceasta se manifestă prin hiperkeratoza conjunctivei, care capătă un aspect uscat. Ochiul își pierde luciul, iar conjunctiva se încrețește dînd senzația de corp străin în ochi. Corneea devine rugoasă, insensibilă la atingere deoarece secreția lacrimară scade, ea nemaifiind protejată de efectul protector și nutritiv al lacrimilor, în primul rînd în dreptul fantelor palpebrale. Scăderea rezistenței la infecții se explică prin dispariția din lacrimi a IgA, IgG, lactotransferinei și lizozimului, putînd apare infecții secundare.

Xeroftalmia survine mai ales la sugari și copii mici, fiind mai frecventă la băieți decît la fete. Ea poate progresa rapid în lipsa vitaminoterapiei putînd conduce la orbire într-un interval de timp relativ scurt (uneori chiar de cîteva ore).

Avitaminoza A avansată conduce la keratomalacie, maladie care se manifestă prin înmuierea și tumefierea corneei concomitent cu o atrofie a sa și o regresiune a globului ocular. Dacă nu se instituie tratamentul adecvat, necroza corneei progresează rapid, orbirea producîndu-se la ambii ochi.

Hemeralopia, xeroftalmia și keratomalacia sînt simptome specifice ale avitaminozei A în timp ce alte simptome ale carenței de vitamină A cum ar

fi xerodermia, leziunile cutanate, hiperkeratoza foliculară, stoparea creșterii, afecțiuni ale aparatului respirator etc. nu se datoresc numai carenței de vitamină A.

S-a constatat că vitamina A joacă un rol indispensabil în dezvoltarea normală a țesutului osos printr-o acțiune specifică pe care o manifestă asupra osteoblaștilor și osteoclaștilor oaselor aflate în creștere. De aceea, carența acestei vitamine determină deformări osoase cu efecte grave asupra structurilor nervoase vecine.

Un alt efect al carenței acestei vitamine îl constituie afectarea creșterii ponderale și staturale, a dezvoltării dinților, atrofia emailului dentar și modificări în acumularea dentinei. La organismele tinere s-a observat stoparea deviziunii celulare din cartilajele de conjugare și atrofia celulelor formate.

Unii autori presupun că litiaza urinară la copii poate fi cauzată de hipovitaminoza A datorită faptului că leziunile epiteliale urinare favorizează constituirea depozitelor de urați, iar calculoza renală este relativ frecventă în acele regiuni geografice în care se observă cazuri numeroase de xeroftalmie.

Avitaminoza A secundară se poate întîlni în diverse situații cum ar fi icterul obstructiv sau fistula biliară care conduc la diminuarea drastică a cantității de bilă din tractul digestiv, cînd dieta este săracă în grăsimi precum și în hipoproteinemie care conduce la perturbarea transportului vitaminei A la nivel sanguin, aceasta fiind legată de o α_1-globulină (RBP). Această diminuarea a suportului proteic de transport al retinolului este frecventă în cazurile de malnutriție proteinică gravă.

b) Hipervitaminoza A

Hipervitaminoza A conduce la apariția unor simptome cum ar fi infecții ale globului ocular, cașexii, căderea părului etc. Hipervitaminoza experimentală pe animale de laborator conduce la intoxicație care se manifestă prin pierderea în greutate, dispariția luciului blănii, căderea părului, edeme ale botului și ochilor, decalcifiere și hemoragii interne. S-a observat o excreție intensă a 17-cetosteroizilor și creșterea permeabilității membranelor celulare și mitocondriale.

La om, fenomenele de intoxicație cu vitamina A apar atunci cînd se ingeră cantități mari de retinol. Astfel, la eschimoși, consumul de ficat de urs alb și a cantităților mari de pește provoacă intoxicatii manifestate prin vărsături, cefalee, amețeli și fisuri ale pielii în jurul gurii (fisuri labiale).

În timpul tratamentului cu vitamină A la copii în cazul unor afecțiuni dermatologice sau în scopul stimulării creșterii, cînd dozele sînt prea mari pot apare intoxicații cronice care se manifestă prin prurit anal sau vaginal, cefalee, dureri articulare, fisuri hemoragice ale comisurilor bucale, xerodermie, insomnie,anorexie, căderea părului, splenomegalie, transpirații noc-

turne etc. Administrarea de doze toxice la gravide duce la apariția de malformații la copii. Excesul de vitamină A mai determină hipertensiune intracraniană care la rîndul ei produce edem papilar de stază cu hemoragii.

În general, se consideră că riscul de intoxicație cu vitamină A apare la administrarea unor doze de 20-50 ori mai mari decît necesarul zilnic. Diagnosticarea intoxicației cu vitamină A se face prin dozarea acesteia în ficat (biopsie); în aceste cazuri conținutul hepatic de vitamină A este mai mare de 3000 mg/g țesut.

II.1.10 Derivați sintetici ai vitaminei A

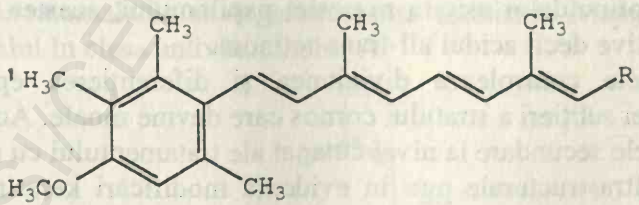
Retinoidele constituie o clasă de compuși chimici cu acțiune terapeutică ce conțin formele naturale și analogii sintetici ai vitaminei A.

Apariția de hiperkeratoze cutanate și metaplazii ale mucoaselor la animalele avitaminizate au trezit interesul cercetătorilor pentru utilizarea vitaminei A în dermatologie și oncologie.

Primele retinoide de sinteză au fost obținute în 1968. Astăzi se cunosc peste 1500 de retinoide sintetice testate clinic.

În general, moleculele retinoidelor de sinteză sînt formate din trei segmente după modelul retinolului: o grupare ciclică, o catenă polienică și o grupare polară. Prima generație de retinoide cuprinde toți metaboliții naturali ai vitaminei A, mai importanți fiind acidul all-trans-retinoic (sau tretinoina) și acidul 13-cis-retinoic (sau izotretinoina).

Prin transformarea grupării ciclice s-au obținut retinoide sintetice din generația a II-a sau retinoidele aromatice printre care etretinatul, acidul p-trimetil-metoxifenil-retinoic (etretina) și motretinida:

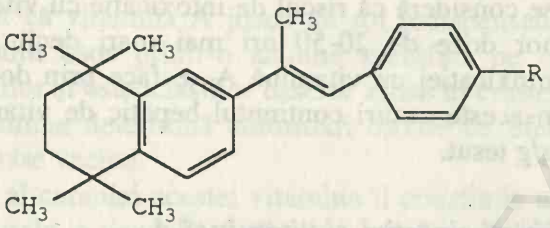


R= -COOH etretina

R= -OCO-C_2H_5 etretinat

R= -CO-NH-C_2H_5 motretinida

Generația a III-a de retinoide s-a obținut prin ciclizarea catenei polienice, cu formarea așa numitelor arotinoide. Acești derivați sînt activi în doze mult mai mici.



arotinoide

Activitatea biologică a acestor retinoide sintetice este extrem de diferită. Alegerea acelor compuși susceptibili de a fi utilizați în testările clinice s-a făcut printr-un model experimental ce include testarea proprietăților anti-keratozice și antitumorale. În ceea ce privește ultimul aspect, experimentele s-au făcut pe șoareci ce prezentau papilom indus de benzantracen. Această tumoră benignă se caracterizează prin proliferare celulară la nivelul epidermei și hiperkeratoză. Ea poate degenera în epiteliom spino-celular.

Înainte de selecționarea produșilor cu activitate antikeratozică importantă dar cu acțiune hipervitaminică minoră a fost definit un index terapeutic pentru fiecare din aceste substanțe. Acesta reprezintă raportul între doza minimă ce produce hipervitaminoza A și doza administrată timp de 14 zile și care provoacă o regresie cu 50 % a volumului papilomului. S-a găsit că indexul terapeutic al acidului 13-cis-retinoic este de 2,5 ori mai mare decît al acidului all-trans-retinoic în timp ce indexul retinoidelor aromatice și arotinoidelor este de 10 ori mai mare. Dacă se ia în considerație numai activitatea arotinoidelor asupra regresiei papilomului, acestea sînt de 8000 de ori mai active decît acidul all-trans-retinoic.

Retinoidele controlează diviziunea și diferențierea epitelială prin inducerea unei subțieri a stratului cornos care devine moale. Această acțiune explică efectele secundare la nivel cutanat ale tratamentului cu retinoide.

Studii ultrastructurale pun în evidență modificări keratinocitare citoplasmatice cu fragilitate lizozomială, edem perinuclear și acumulări de mucină în citoplasmă și spațiul intercelular. Aceste modificări morfologice se explică prin faptul că retinoidele diminuează nivelul precursorilor keratinei și stimulează biosinteza glicoconjugatelor membranare. Retinoidele influențează de asemenea activitatea unor enzime implicate în diviziunea celulară printre care transglutaminaza epidermică și ornitindecarboxilaza.

Izotretinoina diminuează puternic unele fenomene inflamatorii: eritre-

me, edeme etc. prin inhibarea enzimelor lizozomiale, mediatori ai inflamației și chimiotactismului polinuclearelor.

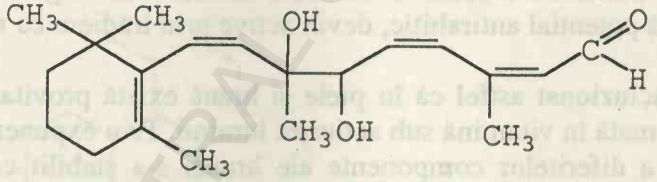
Etretinatul diminuează mobilitatea neutrofilelor și eozinofilelor, precum și migrarea lor intraepidermică, exocitoza polinuclearelor neutrofile fiind un indiciu histologic al psoriazisului. Retinoidele mai stimulează celulele Langerhans care joacă un rol activ în fenomenul imunitar.

Retinoidele sînt substanțe teratogene dar nu sînt mutagene. Femeile aflate la vîrsta de procreere trebuie să utilizeze contraceptive eficiente cel puțin o lună după întreruperea tratamentului cu izotretinoină și cel puțin un an după tratamentul cu etretinat, sarcina fiind o contraindicație absolută. Tratamentul cu retinoide în timpul sarcinii poate produce avortul spontan sau malformații ale fătului (micro- și hidrocefalie, anomalii ale vaselor sanguine, malformații la nivelul urechii externe etc.).

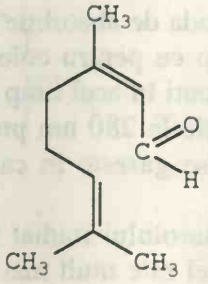
La bărbați, tratamentul cu retinoïde pare să nu conducă la modificări ale spermatogenezei.

II.1.11 Antivitamine A

Primul compus cu proprietăți antivitaminice A a fost sintetizat de Meunier și este un derivat hidroxilat al retinalului cu acțiune toxică:



S-a mai observat că administrarea de citral la animale de experiență provoacă keratomalacie și degenerescență retiniană. Majoritatea autorilor includ citralul în clasa antivitaminelor A.



BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITARĂ LIBRARY

II.2 VITAMINELE D (CALCIFEROLII, VITAMINELE ANTIRAHITICE)

II.2.1 Generalități

Una dintre cele mai răspîndite boli la copii a fost rahitismul sau "boala englezească" descrisă încă din 1650. Această boală se întîlnea în mod deosebit la copiii subnutriți din marile orașe europene și în special din Anglia, incidența fiind mult mai mică în țările sudice care sînt mai însorite și în țările regiunii polare. Abia în 1906 s-a demonstrat că rahitismul este rezultatul unei alimentații necorespunzătoare asemănătoare cu beri-beri sau scorbutul.

În aceeași perioadă, medicul pediatru K.Huldsinschi din Berlin vindecă unii copii de rahitism prin expunerea lor la soare sau cu raze ultraviolete, iar Mellamby utilizează untura de pește. Cercetări ulterioare au demonstrat că factorul antirahitic din untura de pește este diferit de retinol, fiind denumit vitamina D. Ulterior s-a observat că unele alimente de origine vegetală sau animală, fără potențial antirahitic, devin active prin iradiere cu raze ultraviolete.

S-a concluzionat astfel că în piele și hrană există provitamina D care este transformată în vitamină sub acțiunea luminii. Prin expunerea la lumină ultravioletă a diferitelor componente ale hranei s-a stabilit că părțile nesaponificabile ale grăsimilor dobîndesc, după iradiere, activitate vitaminică D. S-a demonstrat că, colesterolul pur nu capătă proprietăți vitaminice D prin iradiere în UV, în timp ce colesterolul impurificat iradiat prezintă proprietăți antirahitice.

În 1926 s-a stabilit că banda de absorbție specifică colesterolului impur se situează la 260 nm în timp ce pentru colesterolul pur ea este mult mai mică. Studiul sterolilor cunoscuți în acel timp a arătat că numai ergosterolul prezintă maximum de absorbție la 280 nm presupunîndu-se că joacă rol de provitamină D. Acest sterol se găsește în cantități variabile în drojdia de bere, *Claviceps purpurea* etc.

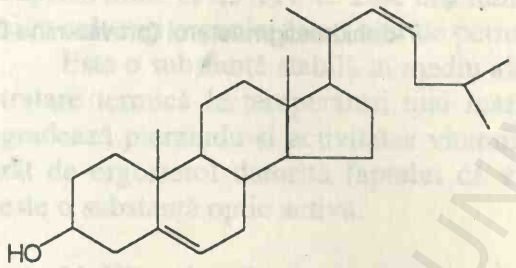
Prin administrarea ergosterolului iradiat șobolanilor și puilor de găină avitaminizați s-a constatat că el este mult mai activ la șobolani. S-a concluzionat că pot exista mai mulți compuși cu acțiune vitaminică D. În 1930, prin distilarea amestecului rezultat prin iradierea ergosterolului, Webster și Askew obțin un produs cu efect antirahitic pe care-l denumesc vitamină D_1.

Ulterior s-a demonstrat că acesta este un amestec al hemisterinei cu calciferolul, denumit mai tîrziu vitamina D_2.

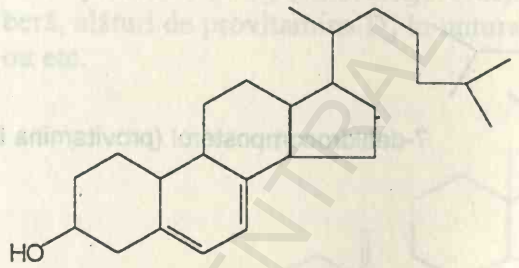
II.2.2 Structura chimică a provitaminelor și vitaminelor D

În prezent se cunosc mai multe provitamine D care, din punct de vedere structural, fac parte din clasa steroidelor alături de alți steroli, acizi biliari, hormoni sexuali, hormoni corticosuprarenali și genine. Toți acești compuși au comun scheletul tetraciclic al ciclopentanoperhidrofenantrenului.

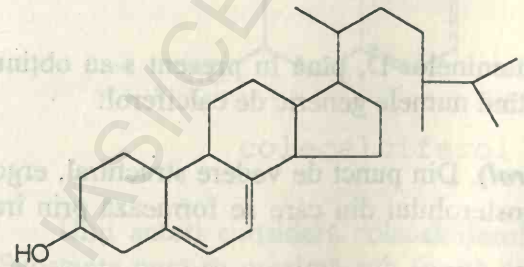
Principalele provitamine D cunoscute pînă în prezent sînt următoarele:



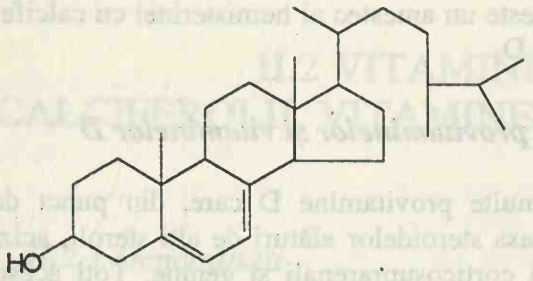
ergosterol (provitamina D_2)



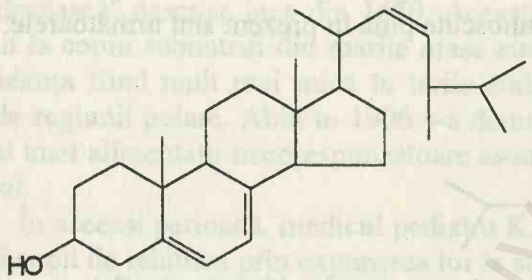
7-dehidrocolesterol (provitamina D_3)



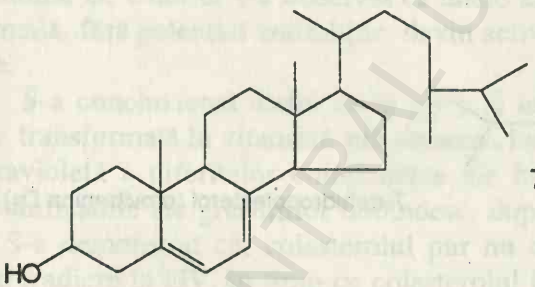
22-dehidroergosterol (provitamina D_4)



7-dehidrositosterol (provitamina D_5)



7-dehidrostigmasterol (provitamina D_6

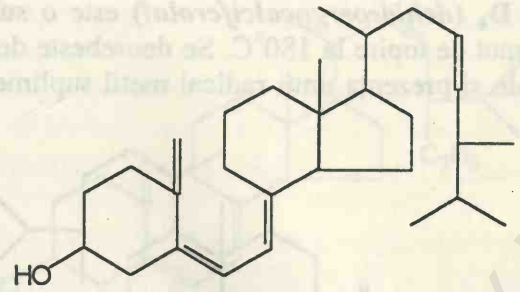


7-dehidrocomposterol (provitamina D7

Prin iradierea în UV a provitaminelor D, pînă în prezent s-au obținut următoarele vitamine D, toate purtînd numele generic de calciferol:

a) Vitamina D_2 (*ergocalciferol*). Din punct de vedere structural, ergocalciferolul este un izomer al ergosterolului din care se formează prin iradiere.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

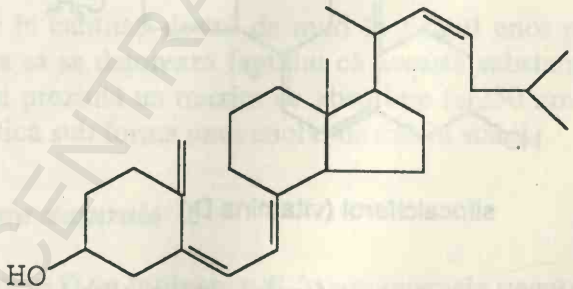


ergocalciferol (vitamina D_2)

Ergocalciferolul pur este o substanță cristalină cu punct de topire cuprins între 114,5-117°C. Este insolubil în apă și solubil în grăsimi, uleiuri și în solvenți organici (eter, eter de petrol, benzen, alcooli, cloroform etc.).

Este o substanță stabilă în mediu alcalin și instabilă în mediu acid. Prin tratare termică la temperaturi mai mari de 180°C, timp de 4 ore, se degradează pierzîndu-și activitatea vitaminică. Ergocalciferolul poate fi separat de ergosterol datorită faptului că vitamina nu precipită cu digitonină; este o substanță optic activă.

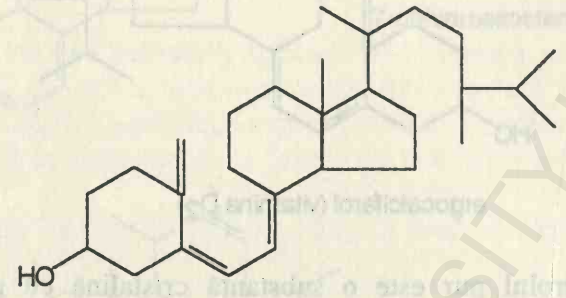
b) Vitamina D_3 (*colecalciferolul*). Se găsește în natură sub formă liberă, alături de provitamina D_3 în untura de pește, ficat, lapte, gălbenușul de ou etc.



colecalciferol (vitamina D_3)

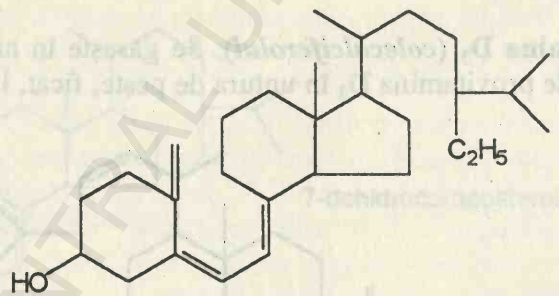
Unii autori consideră colecalciferolul ca fiind adevărata vitamină D. Substanța pură se prezintă sub formă cristalină, cu punct de topire de 82-84°C, insolubilă în apă dar solubilă în solvenți organici. În prezența oxigenului din aer și a luminii se degradează repede cu pierderea proprietăților vitaminice. Este o substanță optic activă.

c) Vitamina D_4 (***dehidroergocalciferolul***) este o substanță cristalină, optic activă, cu punct de topire la 180°C. Se deosebește de vitamina D_3 prin lipsa legăturii duble și prezența unui radical metil suplimentar în catena laterală:



dehidroergocalciferol (vitamina D_4)

d) Vitamina D_5 (***sitocalciferol***) se prezintă sub formă cristalină. Este o substanță optic activă, cu punct de topire 144-145°C. Din punct de vedere structural se deosebește de vitamina D_4 prin prezența unui radical etil la catena laterală:

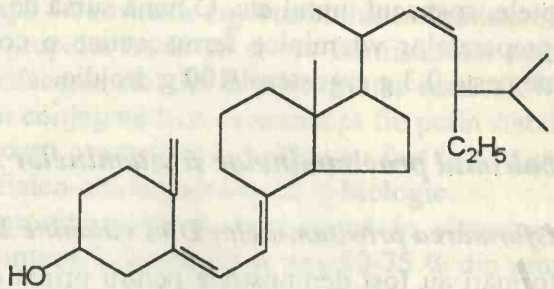


sitocalciferol (vitamina D_5)

Ca toate vitaminele D, sitocalciferolul este insolubil în apă și solubil în solvenți organici.

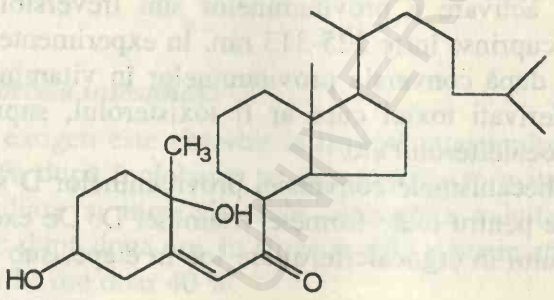
e) Vitamina D_6 (***stigmacalciferol***). Substanța pură este cristalină, optic activă, cu punct de topire de 154°C, solubilă în solvenți organici. Spre deosebire de sitocalciferol, prezintă o legătură dublă la catena laterală:

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



stigmacalciferol (vitamina D_6)

- **f) Vitamina D_7** (***"cetona 250"***) prezintă mai mult o importanță teoretică decît terapeutică.



vitamina D_7

Se găsește în cantități destul de mari în ficatul unor pești și în graminee. Denumirea sa se datorează faptului că această substanță conține o grupare cetonică și prezintă un maxim de absorbție la 250 nm. A fost obținută și pe cale sintetică sub forma unui enolat de calciu stabil.

II 2.3 Stare naturală

Provitaminele D se întîlnesc atît în organismele vegetale cît și animale sub formă de steroli. Se mai găsesc provitamine D în levuri, ciuperci inferioare și superioare etc.

La plante predomină fitosterolii, sitosterolul și stigmasterolul, mai ales în polen. În organismele animale și la om predomină 7- dehidrosterolul.

Legat de ambivalența surselor de vitamine D - exogene și endogene - unii autori consideră că termenul de "vitamine" pentru această clasă de compuși ar fi impropriu.

Hrana omului poate conține deci atît provitamine cît și vitamine D. Cele mai bune surse vitaminice sînt uleiul de pește, slănina cu șoric, peștii

marini, ficatul, laptele, spanacul, untul etc. O bună sursă de provitamină D_2 pentru obținerea preparatelor vitaminice farmaceutice o constituie drojdia de bere care conține peste 0,3 g ergosterol/100 g drojdie.

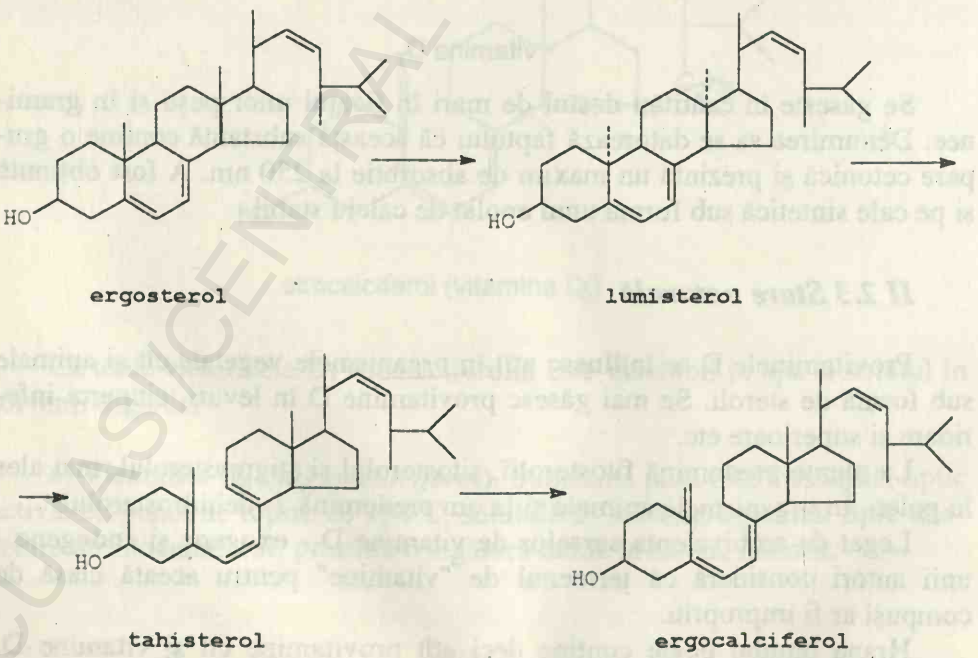
II.2.4 Metabolismul provitaminelor și vitaminelor D

II.2.4.1 Transformarea provitaminelor D în vitamine D

Aceste transformări au fost demonstrate pentru prima dată în 1932 de către Windaus care arată că sub acțiunea radiațiilor ultraviolete, provitaminele D sînt convertite în vitamine D. Ulterior s-a demonstrat că această conversie se poate realiza și sub acțiunea razelor catodice, a curenților de înaltă frecvență și a altor factori.

Reacțiile de activare a provitaminelor sînt ireversibile și au loc la lungimi de undă cuprinse între 225-313 nm. În experimentele *in vitro*, continuarea iradierii după conversia provitaminelor în vitamine D conduce la formarea unor derivați toxici cum ar fi toxisterolul, suprasterolul I, suprasterolul II, pirocalciferolul etc.

În general, mecanismele conversiei provitaminelor D sînt cunoscute și sînt asemănătoare pentru toate formele vitaminei D. De exemplu, transformarea ergosterolului în ergocalciferol are loc în etape, sub acțiunea razelor ultraviolete:



ergosterol lumisterol

tahisterol ergocalciferol

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În prima etapă - conversia ergosterolului în lumisterol - are loc o permutare sterică a grupelor metil 18 și 19. Lumisterolul format trece apoi în tahisterol prin desfacerea ciclului B sub acțiunea razelor UV. Existența celor trei duble legături conjugate face ca acesta să fie puțin stabil trecînd în ergocalciferol. Toți acești produși intermediari au fost izolați și caracterizați din punct de vedere fizico-chimic, structural și biologic.

La plante, provitaminele se transformă în vitamine concomitent cu procesul de fotosinteză. La animale și om, 50-75 % din provitamine se convertesc în vitamine active la nivelul epidermei sub acțiunea razelor ultraviolete.

În continuare, atît ergocalciferolul endogen, sintetizat la nivel cutanat, cît și cel exogen, după absorbția la nivel intestinal, se leagă de o proteină de transport specifică, formă sub care este vehiculat de către sînge în tot organismul.

II.2.4.2 Absorbția intestinală

Calciferolul exogen este absorbit la nivelul intestinului subțire în proporție de 77-79 % după înglobarea sa în miceliile formate de acizii grași liberi, sărurile biliare și monogliceride. Absorbția calciferolului este un proces foarte lent: după două ore, în sînge se află aproximativ 2 % din doza ingerată, iar după 12 ore doar 40 %.

Alături de calciferol, pot fi absorbiți la nivel intestinal și metaboliții săi. Din punct de vedere fiziologic, aceștia au o importanță secundară deoarece ei se formează în mod curent în organism, mai ales din vitaminele D_2 și D_3.

Din punct de vedere terapeutic însă, absorbția acestor metaboliți prezintă o importanță deosebită, mai ales în cazul derivatului hidroxilat la C_{25}: 25-hidroxi-vitamina D sau 25(OH)D, dar și 1,25-dihidroxi-vitamina D sau $1,25(OH)_2D$.

Absorbția intestinală a 25(OH)D se deosebește de cea a calciferolului prin trei factori:

a. absorbția se face mult mai rapid (după 6 ore de la administrare aproximativ 50 % se găsește în sînge);

b. ea este mult mai puțin dependentă de prezența sărurilor biliare (numai 10 % din doza ingerată se găsește în chilomicroni după 2 ore față de 45-100 % în cazul vitaminei D_3);

c. există un ciclu enterohepatic care face ca 35 % din 25(OH)D administrat intravenos să se regăsească în lumenul duodenal în primele 24 de ore.

Se pare că indiferent de formele absorbite la nivel intestinal (provitamine D, vitamine D sau derivații hidroxilați ai acestora) activitatea vitaminică principală o au aceștia din urmă. Biosinteza 25(OH)D are loc preponderent, dacă nu chiar exclusiv, în ficat. Precursorul natural este co-

lecalciferolul, dar sistemele enzimatice ale acestei secvențe metabolice mai pot hidroxila ergocalciferolul precum și unele preparate sintetice utilizate clinic printre care și tahisterolul și 1-α-hidroxicolecalciferolul. Controlul acestor activități biocatalitice rămîne neelucidat. Dacă el există, cu siguranță că funcționează numai față de substanțele naturale și la concentrații ale acestora relativ mari (peste 0,15 mg/g țesut hepatic). Este, de asemenea, discutabilă localizarea acestor sisteme enzimatice - microsomală sau mitocondrială - ea putînd depinde de tipul și concentrația substratului.

Procesul are loc sub acțiunea enzimei numită calciferol-25-hidroxilază care este o monooxigenază citocrom P_{450}-dependentă. Tot în ficat are loc și biosinteza proteinei de transport a calciferolilor și derivaților lor (DBP - *vitamin D Binding Protein*).

Conversia *in vitro* a colecalciferolului în 25(OH)D este foarte rapidă în timp ce *in vivo* acest derivat poate fi detectat mult mai tîrziu (după 24 ore pînă la 4 zile de la injectarea intravenoasă a vitaminei D_3).

Biosinteza $1,25(OH)_2D$ are loc în principal în rinichi, chiar dacă hidroxilarea 25(OH)D cu formarea $1,25(OH)_2D$ poate avea loc și în alte organe și țesuturi în condiții speciale: celulele osoase în cultură, ganglioni limfatici, macrofagi alveolari ai plămînului, sistemul feto-placentar etc.

Hidroxilarea la C_1 nu poate avea loc decît atunci cînd substratul este un derivat 25-hidroxilat, ceea ce înseamnă că mai întîi va avea loc transformarea calciferolilor în 25(OH)D la nivel hepatic pentru ca apoi să se formeze $1,25(OH)_2$ în rinichi.

1α-Hidroxilaza ce catalizează această reacție este, de asemenea, o mono-oxigenază mitocondrială citocrom P_{450}-dependentă care necesită prezența ionilor Mg^{2+}, NADPH, a unei hemoproteine, a feredoxinei și a feredoxin-reductazei.

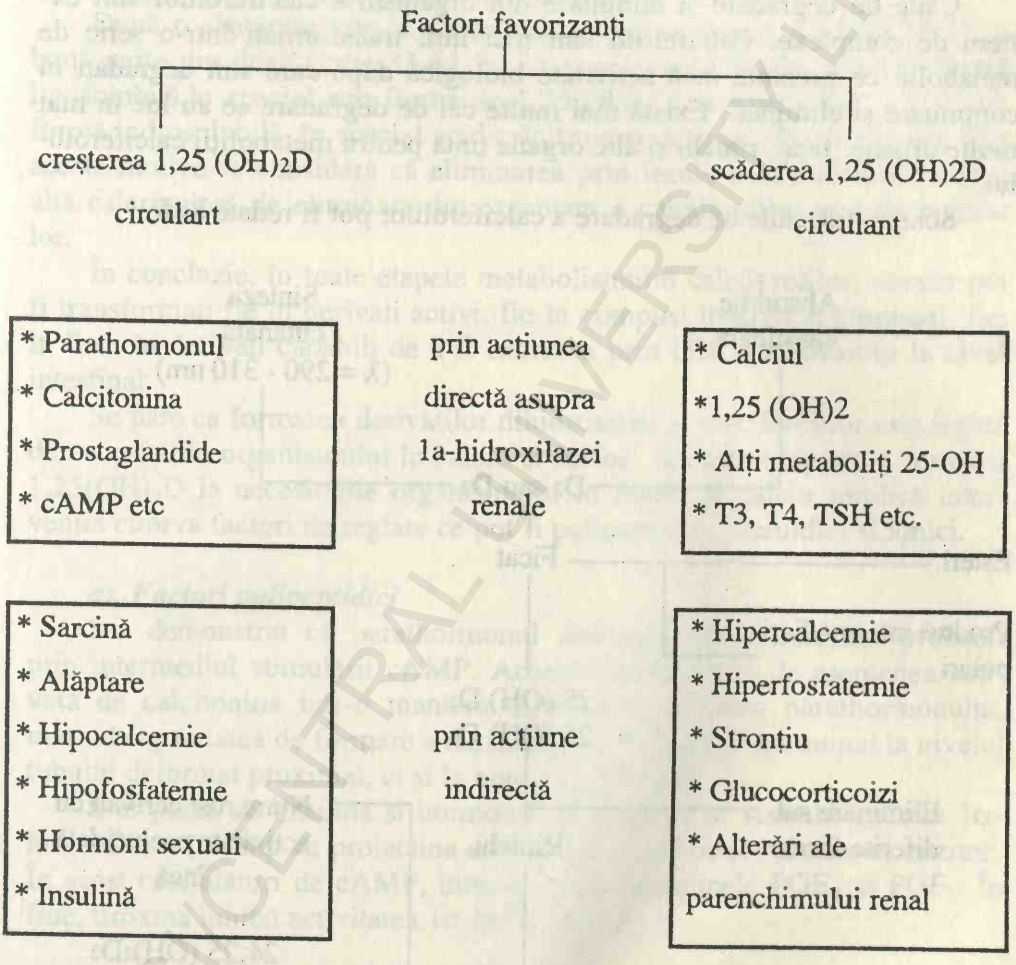
Hidroxilarea atomului C_1 este supusă unui riguros control prin inhibiție de tip feed back deoarece atunci cînd nivelul $1,25(OH)_2D$ în țesutul renal depășește 10^{-10} M (care este concentrația normală circulantă) el manifestă retroinhibiție asupra 1α-hidroxilazei.

Și alți metaboliți dihidroxilați ai calciferolului pot controla *in vivo* activitatea acestei enzime, dar acest efect nu a fost demonstrat pentru steroizii sexuali sau glucocorticoizi.

Reglarea activității 1α-hidroxilazei se mai realizează și prin acțiunea de activare de către parathormon și calcitonină, două polipeptide implicate în reglarea metabolismului fosfocalcic. În același timp, unele prostaglandine și cAMP par să joace un rol biochimic direct asupra activității 1α-hidroxilazei.

Ca și în cazul biosintezei sale, concentrația $1,25(OH)_2D$ circulant este supusă unui control direct în vederea menținerii homeostaziei fosfocalcice. Administrarea de vitamine D sau 25(OH)D în supradoză nu va conduce la o

creștere prea mare a concentrației de $1,25(OH)_2D$ circulant în timp ce administrarea intravenoasă de extract paratiroidian sau o dietă săracă în fosfor vor produce o creștere de pînă la 80 % a concentrației $1,25(OH)_2D$. Factorii ce reglează nivelul concentrației $1,25(OH)_2D$ în sînge sînt sintetizați în schema următoare:



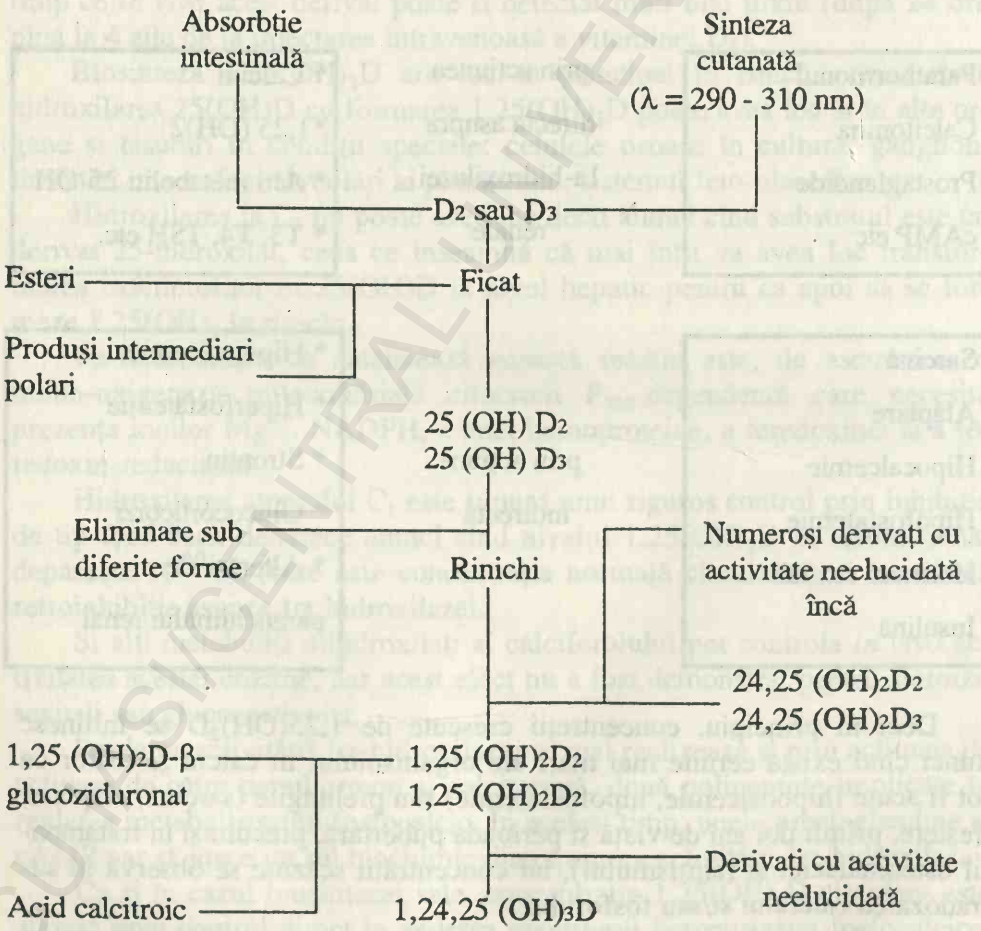
Deci în principiu, concentrații crescute de $1,25(OH)_2D$ se întîlnesc atunci cînd există cerințe mai mari ale organismului în calciu și fosfor ce pot fi acute (hipocalcemie, hipofosfatemie) sau prelungite (sarcină, alăptare, creștere, primii doi ani de viață și perioada pubertară, precum și în tratamentul osteomalaciei și rahitismului), iar concentrații scăzute se observă în supradozarea calciului și/sau fosforului.

În organismul animal și uman se mai formează un derivat dihidroxilat - 24,25$(OH)_2$D - dar tipul enzimei, localizarea și reglarea sa sînt încă discutabile.

II.2.4.3 Catabolismul și eliminarea calciferolilor și aderivaților lor

Căile de degradare și eliminare din organism a calciferolilor sînt extrem de complexe. Calciferolii sînt mai întîi transformați într-o serie de metaboliți ce prezintă încă activitate biologică după care sînt degradați în continuare și eliminați. Există mai multe căi de degradare ce au loc în mai multe organe: ficat, rinichi și alte organe țintă pentru metaboliții calciferolului.

Schematic, căile de degradare a calciferolilor pot fi redate astfel:



Cele mai puțin cunoscute sînt căile de degradare ale derivaților 1,25-dihidroxilați. Se cunoaște că în țesuturile țintă, $1,25(OH)_2D$ se inactivează prin clivarea catenei laterale. Produsul format - acidul calcitroic (24,25,26,27-tetraol-1α-hidroxi-23-carboxi-calciferol) - se elimină prin bilă. Bila reprezintă calea principală de eliminare a produșilor de degradare a $1,25(OH)_2D$, dar și a calciferolilor și a altor metaboliți.

După o săptămînă de la administrarea intravenoasă a $1,25(OH)_2D$, o bună parte din doză (între 33-64 %) se regăsește în fecale, atît sub formă liposolubilă,în special sub formă de $1,25(OH)_2D$ netransformat, cît și sub formă hidrosolubilă, în special acid calcitroic și derivați glicoconjugați. Din aceste motive se consideră că eliminarea prin fecale a calciferolilor este o altă cale majoră de eliminare din organism a calciferolilor și a derivaților lor.

În concluzie, în toate etapele metabolismului calciferolilor, aceștia pot fi transformați fie în derivați activi, fie în compuși inactivi și eliminați, fie, în fine, în derivați capabili de a fi excretați prin bilă și reabsorbiți la nivel intestinal.

Se pare ca formarea derivaților dihidroxilați ai calciferolilor este legată de necesitățile organismului în calciu și fosfor. Această adaptare a formării $1,25(OH)_2D$ la necesitățile organismului în fosfor și calciu implică intervenția cîtorva factori de reglare ce pot fi polipeptidici, steroidici și ionici.

a). Factori polipeptidici

S-a demonstrat că parathormonul activează 1α-hidroxilaza probabil prin intermediul stimulării cAMP. Această enzimă este de asemenea activată de calcitonină într-o manieră diferită de acțiunea parathormonului, mărind capacitatea de formare a derivatului $1,25(OH)_2D$ nu numai la nivelul tubului deformat proximal, ci și la nivelul *pars recta*.

S-ar părea că insulina și hormonul de creștere ar stimula indirect 1α-hidroxilaza, în timp ce prolactina este un activator direct al acestei enzime. În acest caz, alături de cAMP, intervin prostaglandinele PGE_2 și PGF_2. În fine, tiroxina inhibă activitatea 1α-hidroxilazei.

b). Factorii steroidici

În experimentele efectuate *in vitro* s-a demonstrat că $1,25(OH)_2D_3$ este capabilă să inhibe propria sa sinteză. *In vivo* însă se pare că inhibiția 1α-hidroxilazei observată după administrarea $1,25(OH)_2D_3$ la șobolanii cu carență în vitamina D, are loc prin intermediul diminuării secreției de parathormon.

Alți steroizi, cum ar fi estrogenii, androgenii și glucocorticoizii nu influențează în mod direct activitatea 1α-hidroxilazei în doze fiziologic nor-

male, în timp ce aceeași glucocorticoizi inhibă absorbția intestinală a calciului, iar carența în estrogeni este însoțită de o diminuare a sintezei $1,25(OH)_2D$.

c). Factorii ionici

În timp ce stimularea activității 1α-hidroxilazei în hipocalcemie are loc prin intermediul parathormonului, hipofosfatemia stimulează direct această enzimă.

În afară de aceasta, s-a semnalat că 1α-hidroxilaza poate fi inhibată de stronțiu, difosfați, etanol și în acidozele metabolice.

În afară de factorii menționați mai sus, s-ar părea că administrarea de medicamente anticonvulsive ar provoca anomalii ale metabolismului intermediar al calciferolilor.

II.2.5 Rolul biologic al calciferolilor

Rolul biologic primordial al vitaminelor D și al derivaților acestora îl constituie intervenția în metabolismul mineral. Mai exact, calciferolii intervin în absorbția calciului la nivelul intestinului subțire, iar la nivelul intestinului gros, vitaminele D facilitează absorbția calciului alimentar împreună cu hormonul paratiroidian.

Calciferolii mai stimulează activitatea osteoblaștilor în fixarea calciului și micșorează oxidarea citratului, favorizînd concentrarea acestuia în lichidele interstițiale ale osului.

Prin administrarea de fosfor radioactiv a fost studiată influența vitaminelor D asupra metabolismului fosforului. Din acest punct de vedere, efectul cel mai pronunțat a fost pus în evidența în oase unde s-a observat că vitaminele D au rol în procesul de osificare prin convertirea fosforului organic în fosfor anorganic prin mobilizarea lui din țesuturi și favorizarea formării complexului fosfo-calcic. La nivel intestinal, vitaminele D influențează absorbția fosforului în strînsă interdependență cu absorbția calciului.

Calciferolii activează fosfataza alcalină în ficat, rinichi, mucoasa intestinală și din zonele de creștere ale oaselor, precum și ATP-aza, în special cea eritrocitară, fapt ce explică efectul vitaminelor D supra sistemului osos, rinichilor și intestinului.

În fine, calciferolii reglează desfășurarea ciclului acizilor tricarboxilici prin inhibarea aconitazei, fapt care conduce la acumularea de citrat în țesuturile în care acționează vitaminele D. Indirect este deci reglată și generarea de ATP la nivel tisular deoarece ciclul Krebs este principalul furnizor de ATP.

Stimularea absorbției intestinale a calciului și fosforului sub acțiunea calciferolilor este cunoscută de mult timp. Se mai cunoaște, de asemenea, că metabolitul cel mai activ din acest punct de vedere este $1,25(OH)_2D_3$. Acest metabolit accelerează fluxul ionilor de calciu și fosfat din lumenul intestinal fără să influențeze fluxul invers. El stimulează absorția calciului mai ales la nivelul duodenului, apoi la nivelul colonului, jejunului și ileonului.

Stimularea absorbției calciului și fosforului începe după 6-8 ore de la administrarea intravenoasă a $1,25(OH)_2D_3$ dar atinge maximul abia după 24-48 de ore, fapt ce denotă un mecanism extrem de complex al acestui fenomen, mecanism ce a fost clarificat relativ recent,

Derivatul dihidroxilat al vitaminei D_3 se fixează la nivelul unui receptor specific din citosol. Complexul format cu acest receptor se integrează apoi în cromatina nucleară unde modulează transcripția unui ARM_m specific. Acesta la rîndul lui induce biosinteza anumitor proteine, în speță a așa numitei "proteine calcipexice" (calcium binding protein - CaBP) care este de fapt, factorul principal ce stimulează transportul calciului prin peretele intestinal.

Această schemă simplificată nu ține cont însă de rolul posibil al $1,25(OH)_2D_3$ asupra proteinelor preexistente cu rol în transportul calciului și fosforului. Ea explică doar **lipsa** sincronizării între apariția tardivă a CaBP și accelerarea transportului de calciu.

Acțiunea $1,25(OH)_2D_3$ mai constă în creșterea permeabilității la nivelul marginii în perie față de calciu, deoarece acest derivat poate modifica structura fosfolipidică printr-un mecanism care nu reclamă sinteza proteică *de novo* ci care constă în formarea unei structuri specifice. Acesta mai intervine, prin intermediul CaBP și în transportul transcelular al calciului reglînd concentrația sa în citosol și mitocondrii.

S-a demostrat că $1,25(OH)_2D_3$ nu intervine la nivelul membranei bazale unde transportul calciului este asigurat prin mecanismul pompei de sodiu.

Rezultatul stimulării absorbției intestinale a calciului sub acțiunea derivaților dihidroxilați ai calciferolilor îl constituie creșterea absorbției diferențiate a acestuia. Acest lucru explică de ce $1,25(OH)_2D_3$ nu acționează atunci cînd aportul de calciu per os depășește 1,5 g/zi. La asemenea concentrații, absorbția calciului are loc prin difuzie pasivă, iar echilibrul calcic se poate realiza fără intervenția $1,25(OH)_2D_3$.

Mecanismul acțiunii derivaților calciferolilor în absorbția fosforului este mai puțin studiat. S-ar părea că un rol determinant în acest sens îl are creșterea activității fosfatazei alcaline.

Acțiunea la nivel intestinal a acestor metaboliți ai calciferolilor este foarte puțin probabilă.

Deși activitatea antirahitică a calciferolilor este clară, mecanismele care stau la baza acestui efect nu sînt încă elucidate complet, punîndu-se printre altele, problema dacă rolul vitaminelor D și al derivaților lor se manifestă exclusiv sau nu la acest nivel.

Efectul calciferolilor la nivel osos pare a fi un efect secundar prin creșterea concentrației calciului și fosforului în mediul extracelular și prin acțiunea la nivel intestinal (eventual și renal).

Acțiunea directă asupra sistemului osos, cunoscută de mult timp. constă, în mod paradoxal, în creșterea gradului de resorbție ce are drept consecință eliberarea ionilor de calciu și fosfor. Această resorbție este în principal osteoclastică și mai puțin osteocitară. Ea poate avea loc chiar și în absența parathormonului, dar se acumulează la efectul acestuia. Acest efect joacă un rol important în corectarea hipocalcemiei de etiologie hipoparatiroidiană în perioada de pubertate.

Calciferolii mai acționează și asupra cartilajelor. La nivelul condrocitelor există receptori comuni pentru $1,25(OH)_2D_3$ și $24,25(OH)_2D_3$. Acești doi metaboliți sînt capabili să stimuleze incorporarea sulfului în proteoglicani.

Secreția de parathormon este controlată, în principal de nivelul calciului ionic. $1,25(OH)_2D_3$ inhibă indirect secreția paratiroidiană prin creșterea nivelului calciului ionic. În afară de aceasta, au fost identificați receptori paratiroidieni specifici pentru $1,25(OH)_2D_3$ și $24,25(OH)_2D_3$, dar studii privind efectul acestor derivați asupra secreției celulelor paratiroidiene cultivate *in vitro* au dat rezultate contradictorii.

II.2.6. Unități de activitate vitaminică. Necesități nutriționale

O unitate internațională de vitamină D (U.I.) este definită ca fiind cantitatea de vitamină care are o activitate biologică echivalentă cu 0,025μg calciferol.

Alimentele naturale nu conțin decît cantități foarte mici de vitamină D cu excepția unor pești (somoni, heringi, sardine, morun etc care conțin 20-60 μg D_3/100 g). De aceea, sursa principală o constituie calciferolul endogen sintetizat la nivel cutanat.

Producția zilnică de $1,25(OH)_2D$ se situează între 0,3-1,0 mg, fiind însă mai mare la persoanele la care regimul alimentar este sărac în calciu și/sau fosfor, la pubertate și la femei în ultimele luni de sarcină.

Aportul de calciferol endogen poate fi insuficient dacă expunerea la raze UV este inadecvată calitativ și cantitativ (poluare atmosferică, traiul în munți, vestimentație și locuință inadecvate etc). În aceste situații, precum și în țările în care îmbogățirea alimentelor în calciferoli este interzisă, riscul carențelor în vitamină D nu este de loc neglijabil. În aceste situații, aportul

suplimentar (profilactic) pentru nou-născuți se consideră a fi de 20-30 μg/zi în primii doi ani de viață, iar în timpul iernii pînă la 4-5 ani. Pentru femeile aflate în ultimele luni de sarcină se consideră, de asemenea, normal un aport suplimentar de calciferol exogen de 10-20 μg/zi.

II.7. Tulburări de aport vitaminic

În general, se consideră că apariția simptomelor de carență vitaminică D poate fi cauzată de următorii factori:

a). Biosinteză cutanată deficitară:
- expunere insuficientă la soare;
- poluare atmosferică;

b). Aport deficitar de calciferol exogen:
- nesuplimentarea cu vitamină D a hranei subiecților din categoria de risc;
- regim alimentar particular ce scade absorbția intestinală a calciferolilor (regim sărac în grăsimi);
- malabsorbție intestinală;
- obstrucția și atrezia căilor biliare;

c). Catabolism accelerat al calciferolilor:
- tratament anticonvulsiv;

d). Creșterea necesarului de $1,25(OH)_2D$:
- efort;
- sarcină;
- regimuri alimentare sărace în calciu și fosfor sau regimuri ce diminuează absorbția acestor ioni;

e). Pierderi crescute:
- malabsorbție intestinală, insuficiențe hepatobiliare;
- sindrom nefrotic;
- dializă peritoneală cronică.

În cazul vitaminelor D, tulburările de aport vitaminic pot conduce la simptome de hipovitaminoză sau hipervitaminoză.

a). Hipovitaminoza D

Ca urmare a acțiunii unora dintre factorii enumerați mai sus, apare hipovitaminoza care, într-o carență accentuată, produce rahitismul la copii și respectiv osteomalacie la adulți.

Rahitismul

Cercetările efectuate pe animale de experiență au demonstrat că pentru inducerea rahitismului experimental, în afară de deficitul în vitamină D în organism, indiferent de natura lui (endogenă sau exogenă), se impune exis-

tența unui regim alimentar în care raportul P/Ca să difere mult de 1,5. Rahitismul apare atunci cînd carența vitaminică se manifestă în copilărie, cînd organismul este în creștere, băieții fiind mai predispuși acestei maladii decît fetele. Boala este mai frecventă la copiii supuși unor condiții necorespunzătoare de viață, iar în mediul urban incidența este mult mai mare decît în mediul rural.

Rahitismul poate fi datorat și unor cauze secundare, chiar dacă aportul vitaminic și raportul P/Ca sînt optime. Acest tip de rahitism se întîlnește, de exemplu, atunci cînd absorbția la nivel intestinal este dezechilibrată (cum se întîmplă în streatoree, boli pancreatice, diferite boli hepatice etc.) sau în unele afecțiuni renale cînd activitatea 1α-hidroxilazică este absentă. În acest din urmă caz, 25-hidroxicalciferolul nu se mai transformă în derivatul său dihidroxilat cu rol în absorbția intestinală a calciului. Evident că în aceste cazuri, doar administrarea de $1,25(OH)_2D$ este eficientă.

Rahitismul constă într-o perturbare a mineralizării oaselor aflate în curs de creștere, perturbare ce provoacă leziuni osoase prin trei procese diferite:

a. prin demineralizare;

b. prin scăderea absorbției intestinale a calciului;

c. prin scăderea absorbției fosfaților ca urmare a formării fosfaților de calciu insolubili.

În acest din urmă caz, produsul $[Ca^{2+}][PO_4^{2-}]$ al plasmei scade, iar mineralizarea osului este perturbată.

Dacă hipocalcemia induce un răspuns al paratiroidelor se instalează o formă severă a rahitismului deoarece acțiunea parathormonului tinde să aducă la normal calcemia, fapt de accentuează demineralizarea osului. Concomitent se observă și hiperfosfatemie, fapt ce conduce la alterarea raportului Ca/P.

Datorită lipsei sărurilor de calciu, osul nou format este alcătuit exclusiv din matricea organică, iar osul vechi, format înainte de apariția rahitismului, se subțiază datorită decalcefierii, înlăturîndu-se în felul acesta în mod progresiv osul calcefiat. Modificări mai importante apar la oasele lungi, la joncțiunea dintre diafiză și cartilaj.

În afara carenței vitaminice și a alterării absorbției intestinale, în apariția rahitismului la noul născut mai intervin și condițiile schimbului de calciu dintre mamă și făt în perioada prenatală și aportul insuficient al calciului și fosforului prin laptele matern în perioada neonatală.

La sugar, alimentația artificială este rahitogenă prin excesul de lapte de vacă și orarul neregulat al supturilor. Digestia defectuoasă a laptelui de vacă îngreunează absorbția calciului ce conduce la un dezechilibru fosfo-calcic, crescînd necesitățile în vitamină D.

La copiii înțărcați regimul alimentar este predominant glucidic, pîinea fiind de cele mai multe ori în exces. Cum făinoasele prezintă un raport Ca/P≈0,15 riscul de îmbolnăvire este extrem de crescut, mai ales dacă se asociază cu expunerea insuficientă la soare.

Copiii cu rahitism prezintă unele simptome clinice caracteristice printre care cele mai importante sînt: întîrzierea creșterii, dureri osoase, evitarea poziției șezînde, musculatură hipotonă, iar în formele mai grave se semnalează anomalii scheletice. Acestea se referă în primul rînd la unele aspecte cum ar fi: picioare curbe, deformarea craniului, închiderea tardivă a fontanelelor și erupție dentară întîrziată (uneori ea nu este terminată nici după 3 ani). Toracele este deformat prin ieșirtea în relief a sternului și îndepărtarea coastelor inferioare.

Datorită scăderii pronunțate a tonusului muscular, abdomenul poate fi destins ("abdomen de batracian"). Datorită hipocalcemiei, copiii rahitici pot face tetanie manifestă sau lentă, uneori cu spasm carpo-pedal (cînd începe să țipe fără vreo cauză evidentă, copilul capătă brusc un spasm al glotei, își ține respirația, se cianozează, după care inspiră cu un oftat prelung). Aceste simptome se accentuează la copiii rahitici care suferă și de spasmofilie. Simptomele de spasmofilie apar frecvent și în cazul aplicării unui tratament defectuos al rahitismului, cînd raportul Ca/P este foarte scăzut.

S-a constatat că în rahitism, asimilarea fierului este mult diminuată din care cauză starea de rahitism este însoțită uneori de anemie.

Tratamentul curativ al rahitismului se instituie, în general, în raport de gravitatea bolii. Unii autori consideră că administrarea a 250 U.I./zi este suficientă pentru prevenirea rahitismului la sugari. În perioada copilăriei și adolescenței se administrează pînă la 400 U.I./zi, de regulă în laptele care formează alimentația de bază a acestora. La prematuri necesarul zilnic de vitamină D este evaluat la 1000 U.I.

Cînd boala s-a instalat, dozele sînt mult mai mari, doza zilnică ajungînd la 1200 U.I./zi. Dacă simptomele și analizele indică un rahitism sever, se administrează 2500-5000 U.I./zi timp de 40-50 zile. Unii autori au administrat doze unice de 600.000 U.I./zi, uneori chiar și de 1.200.000 sau 1.800.000 în 2-3 reprize, atît în scop profilactic cît și curativ.

Există însă forme de rahitism rezistent la vitamina D. Este vorba în primul rînd de o maladie congenitală numită "rahitism vitamino-D rezistent, primitiv hipofosforic". El este cauzat de o insuficiență a absorbției calciului la nivel intestinal. În acest caz simptomele, care sînt asemănătoare cu cele din rahitism, apar mult mai tîrziu, după 2-3 ani, uneori chiar la pubertate.

În fine, apariția de stări rahitice se mai observă în unele stări patologice hepatice și renale care diminuează activitatea hidroxilazelor specifice, calciferolii neputînd fi transformați în metaboliții lor activi dihidroxilați.

Osteomalacia

Cînd carența în vitamină D, calciu și fosfor survine la adulți apare maladia numită osteomalacie care se manifestă, ca și rahitismul, prin decalcifierea defectuoasă a țesutului osos. Aceasta este o boală de origine dietetică, cu incidență mai mare la femei, care se manifestă prin dureri ale membrelor inferioare, deformări ale coloanei și oaselor pelviene. Fracturile osoase se produc mai frecvent la bătrîni și mai rar la tineri, cu incidență mai mare la femei decît la bărbati.

b). Hipervitaminoza D

Multe date experimentale atestă faptul că în urma tratamentului cu supradoze de vitamină D apar o serie de intoxicații, uneori letale, cauzate de instalarea stării de hipervitaminoză D. S-a constatat că incidența este mai mare în cazul utilizării preparatelor vitaminice sintetice, oricît ar fi de pure.

Hipervitaminoza D se manifestă prin tulburarea severă a creșterii la copii, cefalee, sensibilitatea crescută a scalpului etc.

Creșterea concentrației calciului seric poate induce o calcifiere a țesuturilor moi (cornee, vase sanguine, rinichi etc). Apar tulburări gastrice, oboseală, dezorientare, poliurie, anorexie, senzația de greață și vomă, pierderea în greutate etc. Datorită instalării hipercalcemiei, apar leziuni renale prin nefrocalcinoză care conduce la insuficiență renală, precum și blocarea secreției hormonului paratiroidian. Hipervitaminoza acută poate fi letală, moartea survenind datorită uremiei sau prin hemoragie subarahnoidiană și tulburări cardiovasculare. Unii autori consideră că hipervitaminoza D poate fi unul din factorii care provoacă leziuni endoteliale coronariene în declanșarea aterogenezei din cardiopatia ischemică.

II.2.8. Antivitamine D

În marea lor majoritate, antivitaminele D sînt substanțe total diferite structural de calciferoli. Astfel, acidul fitic care se găsește în cereale are acțiune rahitogenă chiar dacă nu există carență în vitamina D.

S-a mai observat că spanacul prezintă, de asemenea, acțiune rahitogenă, ulterior demonstrîndu-se faptul că printre antivitaminele D se numără și carotenoizii. De altfel, hipervitaminoza A determină fragilitatea oaselor. Cortizonul este, de asemenea, o antivitamină D în timp ce acetatul de cortizon are o acțiune similară hipervitaminozei D.

Efect rahitogen se mai observă și în inhibiția biosintezei proteice de către actinomicină, puromicină și mitramicină. Acțiune antivitaminică D mai prezintă rezerpina, fenobarbitalul, EDTA, vitaminele B_1, B_2 și E, precum și hidroxidul de aluminiu sau uleiul de parafină folosiți ca pansament

gastric prin faptul că diminuează absorbția vitaminelor D la nivelul tubului digestiv.

Datorită pericolului apariției hipervitaminozei, precum și datorită complexității activității biologice a vitaminei D, care depășesc cadrul strict al metabolismului fosfo-calcic, administrarea calciferolilor în tratamentul rahitismului și osteomalaciei, dar mai ales în scop profilactic se face după o temeinică explorare biochimică și funcțională. Aceste explorări implică, în primul rînd, determinarea calciului sanguin, studiul etiologic al hipo- și hipercalcemiei și coroborarea acestora cu explorarea endocrinologică.

Se mai cunoaște faptul că hipocalcemia poate fi de etiologie extraparatiroidiană, paratiroidiană și pseudoparatiroidiană.

a). Hipocalcemia extraparatiroidiană

Aceasta poate fi cauzată de diminuarea fluxului calcic în lichidul extracelular, scăderea reabsorbției calciului la nivel tubular, insuficiența renală cronică etc.

La rîndul ei, scăderea fluxului de calciu în lichidul extracelular poate fi cauzată de:

- carențe nutriționale, expunere insuficientă la acțiunea razelor ultraviolete și malabsorbția intestinală a substanțelor grase;
- deficiențe ale metabolismului vitaminelor D prin deficit de 25-hidroxilază hepatică, inducție hepatică a biosintezei enzimelor ce degradează 25(OH)D, deficit de 1α-hidroxilază renală (rahitism vitaminodependent de tip I),rezistență la acțiunea 1,25-dihidroxicalciferolului (rahitism vitaminorezistent de tip II) etc.

Insuficiența renală cronică produce hipocalcemie printr-un mecanism complex, la care participă mai mulți factori. Este vorba de diminuarea activității 1α-hidroxilazei concomitent cu diminuarea masei nefrotice, rezistența osoasă față de acțiunea parathormonului, scăderea reabsorbției calciului la nivel tubular, acumularea de fosfați și alți anioni ce pot complexa calciul etc.

Hipocalcemie, însoțită de hipocalciurie poate să apară și în fază de vindecare a osteopatiilor metabolice, după intervenții chirurgicale, în hiperparatiroidii primitive. În acest caz, hipocalcemia mai este însoțită și de o creștere netă a osteocalcinei.

b). Hipocalcemia paratiroidiană

În hipoparatiroidie, calcemia este, în general, foarte scăzută (sub 2mM) și asociată cu o creștere a fosfatemiei, parathormon diminuat sau inadaptat la hipocalcemie, cAMP nefrogenic scăzut, hipocalciurie etc.

Hipoparatiroidia este întîlnită mai ales după unele intervenții chirurgicale (de exemplu tiroidectomii), dar poate fi și secundară (boala Wilson,

hemocromatoză etc.). În acest din urmă caz, diagnosticul poate fi confirmat de un test cu parathormon exogen care indică o creștere a cAMP nefrogenic.

c). Hipocalcemia pseudoparatiroidiană

Pseudoparatiroidia de tip I se caracterizează printr-o rezistență a organelor țintă la acțiunea parathormonului. În 50 % din cazuri aceasta este o afecțiune congenitală și constă în absența cuplării receptorului cu adenilatciclaza membranară. Se observă în acest caz o creștere a secreției de parathormon, diminuarea cAMP nefrogenic și absența hiperfosfaturiei la testul cu parathormon exogen.

Pseudoparatiroidia de tip II se caracterizează prin rezistență la parathormon la nivel periferic.

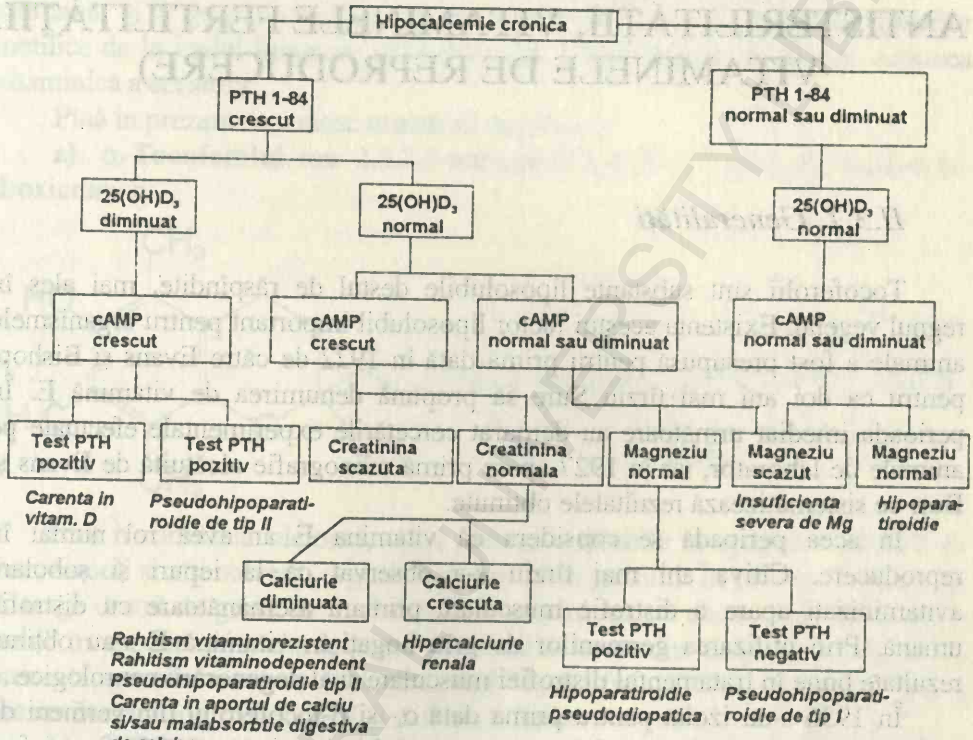
S-a mai descris o hipoparatiroidie pseudoidiopatică definită prin biosinteza de parathormon inactiv față de organele sensibile la administrarea hormonului exogen.

La rîndul lor, hipercalcemiile pot fi datorate fie hiperparatiroidiei, fie că sînt asociate cu afecțiuni maligne. Alte etiologii sînt mult mai rare (granulomatoză, boala Paget, imobilizare prelungită, tirotoxicoză, unele afecțiuni endocrine).

Strategia explorării funcționale a hipercalcemiei cronice se poate prezenta schematic astfel:

HIPERCALCEMIE		
PTH crescut		PTH normal
cAMP crescut		cAMP normal sau scăzut
1,25 (OH) $_2$D$_3$ crescut	1,25 (OH) 2D3 normal sau scăzut	1,25 (OH)$_2$D$_3$ crescut
Hiperparatiroidie primară	Tumori; Imobilizare prelungită; Boala Paget; Afecțiuni endocrine; Insuficiență renală	Granulomatoză Hipervitaminoză

Explorarea hipocalcemiei cronice se prezintă schematic astfel:



II.3 VITAMINELE E (TOCOFEROLII, VITAMINELE ANTISTERILITĂȚII, VITAMINELE FERTILITĂȚII, VITAMINELE DE REPRODUCERE)

II.3.1. Generalități

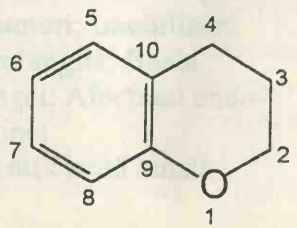
Tocoferolii sînt substanțe liposolubile destul de răspîndite, mai ales în regnul vegetal. Existența acestui factor liposolubil important pentru organismele animale a fost presupusă pentru prima dată în 1922 de către Evans și Bishop, pentru ca doi ani mai tîrziu Sure să propună denumirea de vitamină E. În perioada imediat următoare au demarat cercetările experimentale efectuate pe animale de laborator, iar în 1927 apare prima monografie alcătuită de Evans și Burr ce sistematizează rezultatele obținute.

În acea perioadă se considera că vitamina E ar avea rol numai în reproducere. Cîțiva ani mai tîrziu s-a observat că la iepuri și șobolani avitaminizați apare o distrofie musculară primară asemănătoare cu distrofia umană. Prin utilizarea germenilor de grîu bogați în vitamină E s-au obținut rezultate bune în tratamentul distrofiei musculare și al degenerării neurologice.

În 1936 s-au izolat pentru prima dată α- și β-tocoferolul din germeni de grîu, în 1938 Fernholz le stabilește structura chimică, iar în 1956 au mai fost izolați ε-tocoferolul și η-tocoferolul. Normele privind nomenclatura tocoferolilor au fost stabilite de IUPAC în 1969.

II.3.2 Structura chimică și proprietățile tocoferolilor

În prezent se cunosc șapte tocoferoli (notați α, β, γ, δ, ε, ζ și η), primii patru fiind bine studiați. Din punct de vedere structural, toți tocoferolii sînt derivați ai cromanului (dihidrobenzopiran), care conțin cîte un hidroxil fenolic în poziția 6 și cîte o catenă laterală derivată de la fitol, în poziția 2:

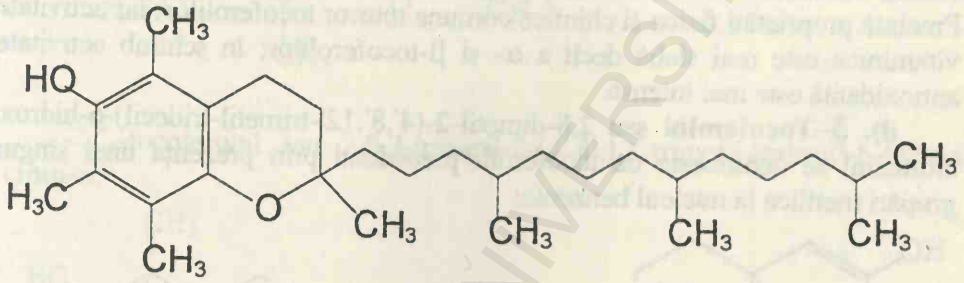


Deși prezintă un hidroxil fenolic, tocoferolii nu dau reacții de culoare cu clorura ferică și nu au caracter slab acid. Celelalte proprități ale tocoferolilor printre care stabilitatea crescută a esterilor acestora, sînt comune cu ale fenolilor.

Activitatea vitaminică a tocoferolilor este imprimată de prezența nucleului cromanic și a grupării fenolice libere sau esterificate, iar numărul grupelor metilice de la inelul benzenic al cromanului influențează de asemenea acțiunea vitaminică a acestora.

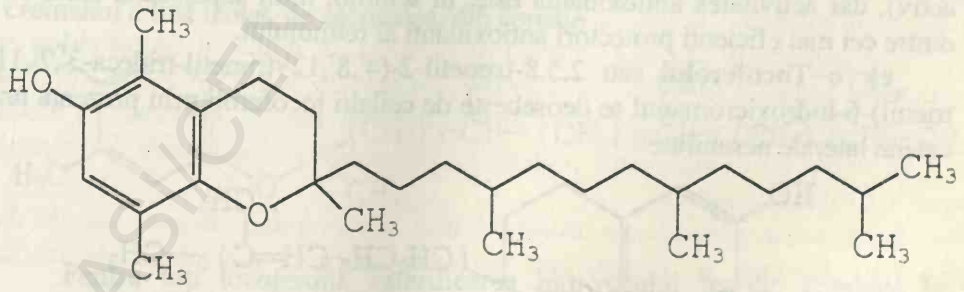
Pînă în prezent se cunosc următorii tocoferoli:

a). α-Tocoferolul sau 2,5,7,8-tetrametil-2-(4',8',12'-trimetiltridecil)-6-hidroxicroman:



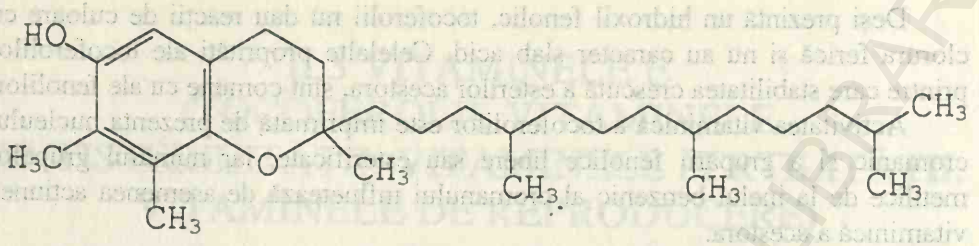
Este o substanță uleioasă, optic activă, insolubilă în apă, dar solubilă în eter, alcooli și alți solvenți organici precum și în grăsimi. În procesul culinar se distruge destul de greu, iar în absența oxigenului rezistă chiar și al 250°C. Este stabil în mediu acid, dar extrem de instabil în mediu alcalin precum și în prezența agenților oxidanți (halogeni, $AgNO_3$, $KMnO_4$,$KClO_4$, H_2O_2 etc.) sau a grăsimilor rîncede, razelor UV și a clorurii ferice.

b). β-Tocoferolul sau 2,5,8-trimetil-2-(4',8',12'-trimetil-tridecil)-6-hidroxicroman:



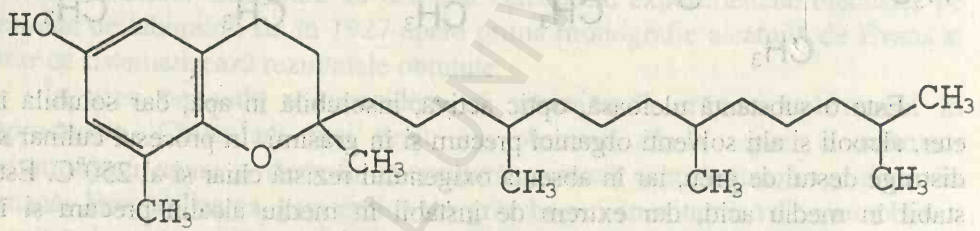
Este o substanță uleioasă, optic activă, termostabilă în absența oxigenului dar ușor degradabilă în prezența acestuia.

c). γ-Tocoferolul sau 2,7,8-trimetil-2-(4',8',12'-trimetil-tridecil)-6-hidroxicroman:



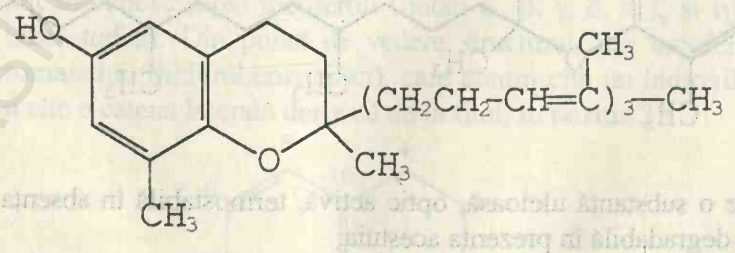
A fost izolat pentru prima dată din uleiul de semințe de bumbac. Ca și ceilalți tocoferoli se sintetizează în plantele verzi, la nivelul cloroplastelor. Prezintă proprietăți fizice și chimice comune tuturor tocoferolilor, iar activitatea vitaminică este mai slabă decît a α- și β-tocoferolilor; în schimb activitatea antioxidantă este mai intensă.

d). δ–Tocoferolul sau 2,8-dimetil-2-(4',8',12'-trimetil-tridecil)-6-hidroxicromanul se deosebește de tocoferolii precedenți prin prezența unei singure grupări metilice la nucleul benzenic:



Activitatea vitaminică a δ–tocoferolului este mult inferioară tocoferolilor descriși mai sus (comparativ cu α-tocoferolul este de 100 de ori mai puțin activ), dar activitatea antioxidantă este, în schimb, mult superioară, fiind unul dintre cei mai eficienți protectori antioxidanți ai retinolului.

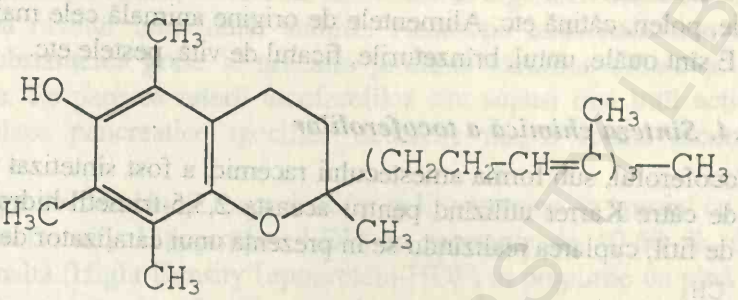
e). ε–Tocoferolul sau 2,5,8-trimetil-2-(4',8',12'-trimetil-trideca-3',7',11'-trienil)-6-hidroxicromanul se deosebește de ceilalți tocoferoli prin prezența unei catene laterale nesaturate:



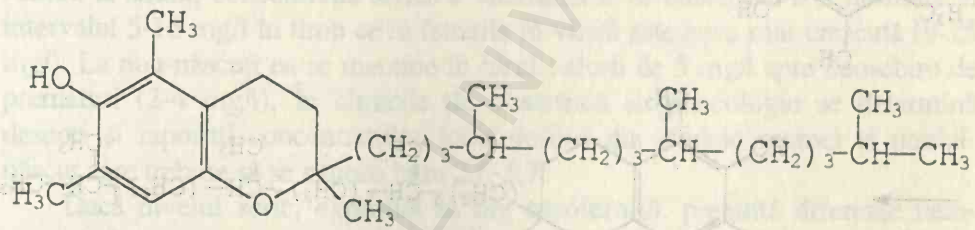
A fost izolat prima dată din germenii de grîu, fiind apoi identificat și în ovăz, orez și alte cereale.

f). ζ-Tocoferolul se întîlnește în uleiul de palmier și în cereale sub două forme:

- ζ_1-tocoferolul sau 2,5,7,8-tetrametil-2-(4',8',12'-trimetil-trideca-3',7',11'-trienil)-6-hidroxicroman:

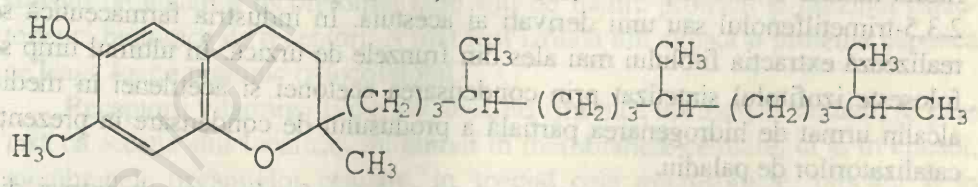


- ζ_1-tocoferolul sau 2,5,7-trimetil-2-(4',8',12'-trimetil-tridecil)-6-hidroxicroman:



Activitatea vitaminică este mai scăzută decît a α-tocoferolului, dar mult suprioară δ–tocoferolului.

g). η-Tocoferolul sau 2,7-dimetil-2-(4',8',12'-trimetil-tridecil)-6-hidroxicromanul a fost izolat, de asemenea, din cereale



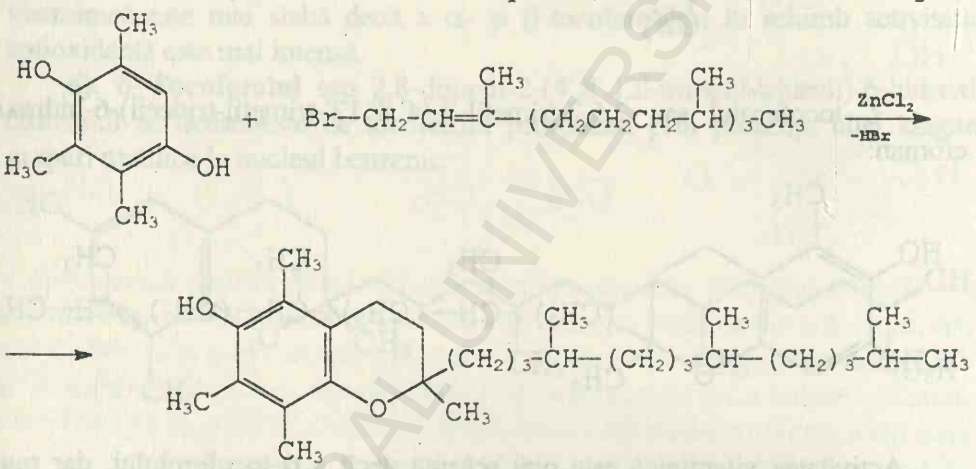
Pentru toți tocoferolii, esterificarea hidroxilului fenolic conduce la o creștere considerabilă a stabilității, mărindu-se totodată și activitatea lor biologică. Acest lucru prezintă imprtanță practică, preparatele farmaceutice livrîndu-se sub forma esterilor, mai ales sub formă de palmitat.

II.3.3. Stare naturală

Tocoferolii sînt răspîndiți destul de larg în natură, cantitățile cele mai mari găsindu-se în boabele cerealelor, uleiurile vegetale,arahide, mazăre, spanac,nuci, varză roșie, polen, cătină etc. Alimentele de origine animală cele mai bogate în vitamină E sînt ouăle, untul, brînzeturile, ficatul de vită, peștele etc.

II.3.4. Sinteza chimică a tocoferolilor

α-Tocoferolul, sub forma amestecului racemic, a fost sintetizat prima dată în 1938 de către Karrer utilizînd pentru aceasta 2,3,5-trimetil-hidrochinona și bromura de fitil, cuplarea realizîndu-se în prezența unui catalizator de $ZnCl_2$:



Ulterior au fost puse la punct și alte procedee de sinteză care utilizează fitolul natural extras și purificat din țesuturi vegetale sau halogenuri de fitil și 2,3,5-trimetilfenolul sau unii derivați ai acestuia. În industria farmaceutică se realizează extracția fitolului mai ales din frunzele de urzică. În ultimul timp se folosește izofitolul sintetizat prin condensarea acetonei și acetilenei în mediu alcalin urmat de hidrogenarea parțială a produsului de condensare în prezența catalizatorilor de paladiu.

În practica medicală se utilizează însă și tocoferolii naturali extrași din uleiurile vegetale, în special din germenii de grîu sau uleiul de cătină. Concentratele obținute prin extracție conțin maximum 65 % α-tocoferol.

II.3.5. Metabolismul tocoferolilor

Plantele verzi, în special gramineele sintezeaza tocoferolii utilizînd fitolul ce participa si la sinteza clorofilei.

BCU "MIHAI EMINESCU" CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În experimente pe animale de laborator s-a demonstrat că organismele animale sînt incapabile să sintetizeze aceasta vitamină chiar dacă li se administrează fitol si trimetilhidrochinonă.

La animale și la om, tocoferolii sînt aduși în organism odată cu hrana fiind absorbiți la nivelul intestinului subțire. Absorbția intestinală este legată de digestia substanțelor grase și necesită prezența sărurilor biliare și a lipazei pancreatice. Se pare că esterii tocoferolilor sînt supuși mai întîi acțiunii unei ester-hidrolaze pancreatice specifice deoarece numai forma alcoolică este absorbită.

În sînge, tocoferolii se leagă de diferite lipoproteine, în special cu densitate mică (Low Density Lipoproteins-LDP) în proporție de 40-60 %, dar și cu densitate înaltă (Hight Density Lipoprotein-HDP) în proporție de pînă la 35 %. Concentrația serică a tocoferolilor este în strînsă legătură cu nivelul lipemiei și colesterolemiei, situîndu-se în jurul a 0,6-0,8 mg tocoferoli/g lipide totale plasmatice. Ponderea tocoferolilor în ser mai depinde însă și de sex, vîrstă etc. Astfel, la adulți, concentrația serică a vitaminei E se consideră a fi normală în intervalul 5-16 mg/l în timp ce la femeile în vîrstă este ceva mai crescută (9-25 mg/). La nou-născuți ea se menține în jurul valorii de 5 mg/l spre deosebire de prematuri (2-4 mg/l). În clinicile de obstetrică și ginecologie se determină deseori și raportul concentrațiilor tocoferolilor din sîngele mamei și noului-născut care trebuie să se situeze între 2,6-5,7.

Dacă nivelul seric, exprimat în mg tocoferoli/l, prezintă diferențe neînsemnate între sexe, cantitatea de vitamină raportată la kilocorp este mult diferită (în jur de 50 mg/kg la bărbați și respectiv 160 mg/kg la femei).

După adsorbția intestinală și vehicularea sanguină sub formă de chilomicroni, tocoferolii sînt stocați în principal în țesutul adipos și hepatic, dar cantități detectabile se întîlnesc în toate țesuturile. În globulele roșii există situsuri de legare a tocoferolilor care sînt de natură proteică și prezintă caracteristici biologice de receptori. A mai fost izolată din citosol o proteină hepatică ce leagă foarte puternic α-tocoferolul.

Receptorii vitaminei E din alte țesuturi sînt încă insuficient studiați; se pare însă că aceștia sînt localizați nu numai în membranele celulare, ci și în citosol, membranele organitelor celulare, în special cele microsomale, precum și în nuclee.

Fixarea unei anumite cantități de tocoferoli de membranele biologice este demonstrată de faptul că în experimentele de provocare a carenței de vitamină E la animalele de laborator, în prima fază se observă o diminuare cu aproximativ 50 % a tocoferolilor la nivel hepatic și cardiac în primele 2-3 săptămîni, după care urmează un platou, cu o scădere foarte lentă, fapt ce denotă existența unei fracții non labile.

Eliminarea din organism se face, în principal, prin bilă și fecale sub formă mai ales de tocoferoli liberi, dar și sub forma unor derivați oxidați cum ar fi acidul tocoferonic, tocoferono-lactona, tocoferil-p-chinona etc. Pe cale urinară, eliminarea tocoferolilor se face în principal sub formă de glucuroconjugați.

II.3.6. Rolul biologic al tocoferolilor

Datele științifice acumulate pînă în prezent în ceea ce privește acțiunea tocoferolilor sînt extrem de multiple și diverse. Mai mult decît atît, o serie de efecte constatate *in vivo* sau *in vitro* rămîn, în mare parte, ipotetice.

În mod artificial, efectele vitaminei E în organismul animal pot fi clasificate în efecte antioxidante și efecte de stabilizare a membranelor. Celelalte efecte, mai selective, derivă probabil din acestea în funcție de nivelul particular la care se manifestă, cum ar fi autohemoliza, agregarea plachetelor și a diverșilor complecși enzimatici etc.

a). Efecte antioxidante

La nivel tisular, oxigenul se comportă mai puțin ca o moleculă stabilă și mai mult ca "doi radicali liberi legați unul de altul", iar reducerea sa în etape, cu formare de apă este însoțită de producerea de alți radicali de oxigen: O (singlet de oxigen sau oxigen atomic), $O_2^-\cdot$ (superoxid), H_2O_2 (hidroperoxid), HO·(hidroxi-radical) etc. Dacă în unele privințe acești radicali prezintă o utilitate biologică (efect bactericid, limfocitotoxicitate etc.), ei constituie, în general, toxici capabili să destabilizeze majoritatea biomoleculelor, cu precădere acizii grași nesaturați și analogii lor. Procesele ce stau la baza toxicității acestor radicali sînt amplificate de diferiți factori cum ar fi lumina, ionii metalici (în special cei de fier și cupru), acizi organici etc.

În ceea ce privește acizii grași nesaturați, dar și alte molecule nesaturate, sub acțiunea radicalilor liberi se pot forma peroxizi într-o serie de reacții neenzimatice.

În vivo aceste procese de oxidare sînt permanente și menținute la un nivel minim. Organismele vii dispun de numeroase sisteme de protecție antioxidantă capabile să le protejeze de această agresiune continuă. Tocoferolii reprezintă "modalitatea de a economisi" radicalii liberi cea mai eficientă. Activitatea lor antioxidantă se realizează la nivelul membranelor și este facilitată de prezența în moleculă a catenei laterale izoprenoidice capabile să se integreze în componenta lipidică prin interacțiunile hidrofobe. Rolul de donor de hidrogen este facilitat de prezența grupării hidroxilice la C_6 din nucleul croman. Printr-o serie de transformări insuficient studiate, tocoferolii formează unii produși stabili,

transformîndu-se în chinone, sau în derivați complecși ai peroxizilor lipidici. Schematic, aceste transformări pot fi redate astfel:

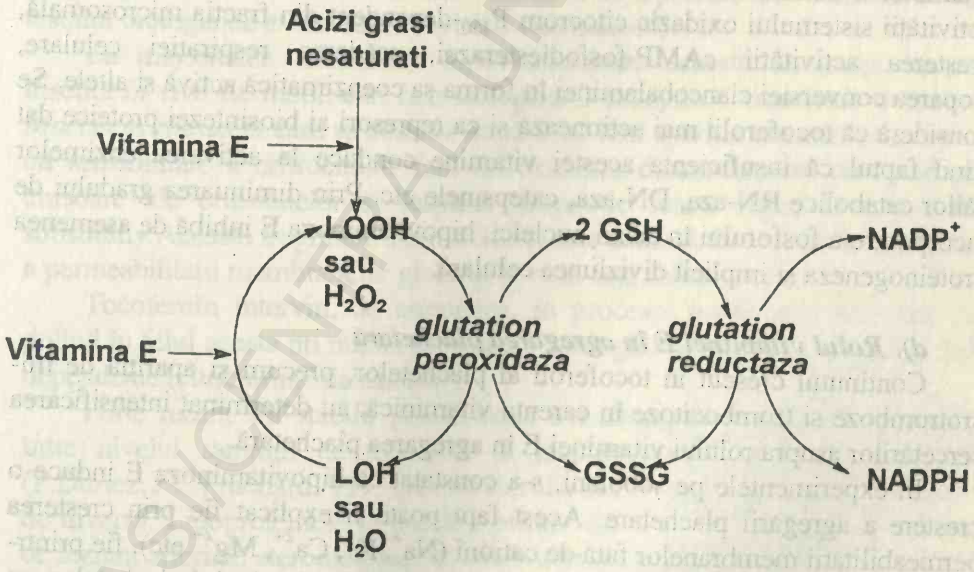
$LO_2 + T\text{-}OH \rightarrow LOOH + TQ$

$LO_2 + T\text{-}OH \rightarrow LO_2\text{-}TH$

$LO_2 + [LO_2\text{-}OH] \rightarrow LOOH + TQ$

unde: LO_2 - peroxid lipidic
LOOH - hidroperoxid lipidic
T-OH - tocoferol
TQ - tocoferil-chinonă

În organismele vii există însă mai multe sisteme de protecție antioxidantă: pirimidinnucleotide reduse, tioaminoacizi, unele proteine cum ar fi ceruloplasmina și transferina, sisteme enzimatice specifice (superoxiddismutaza, catalaza etc.), vitamina C și altele. Într-o serie de transformări ce au drept scop "amortizarea" radicalilor liberi, poate exista un sinergism între vitamina E și unele din aceste sisteme antioxidante. Astfel, mai bine studiat este mecanismul de acțiune al glutationului în descompunerea peroxizilor lipidici și a hidroxiacizilor derivați, unde cooperarea între glutation și tocoferol poate fi redată astfel:



Glutation-peroxidaza este o enzimă seleniu-dependentă. S-a observat că insuficiența seleniului în hrană provoacă unele simptome caracteristice hipovitaminozei E și invers, insuficiența tocoferolilor este parțial compensată de un aport ușor excedentar de seleniu.

b). Efecte de stabilizare a membranei celulare

Activitatea de protecție antioxidantă *in vivo* a tocoferolilor este demonstrată experimental, cunoscîndu-se în special necesitățile crescute în vitamină E în cazul unui conținut sporit al alimentelor în acizi grași nesaturați. Mecanismele de acțiune sînt însă mult mai puțin studiate comparativ cu ale altor antioxidanți. Acest lucru i-a determinat pe Lucy și Diplack să sugereze ideea că tocoferolii participă la formarea și stabilizarea componentei fosfolipidice a membranelor, iar efectul de stabilizare poate fi independent de efectul antioxidant. Se consideră că grupele metil grefate pe radicalul fitil al tocoferolilor prezintă afinitate față de unele situsuri ale straturilor fosfolipidice. Aranjamentul tridimensional al complexului astfel constituit permite hidroxilului grefat pe nucleul croman și grupelor polare ale acizilor grași să se orienteze foarte aproape de faza apoasă, locul unde se realizează numeroase transformări biochimice importante.

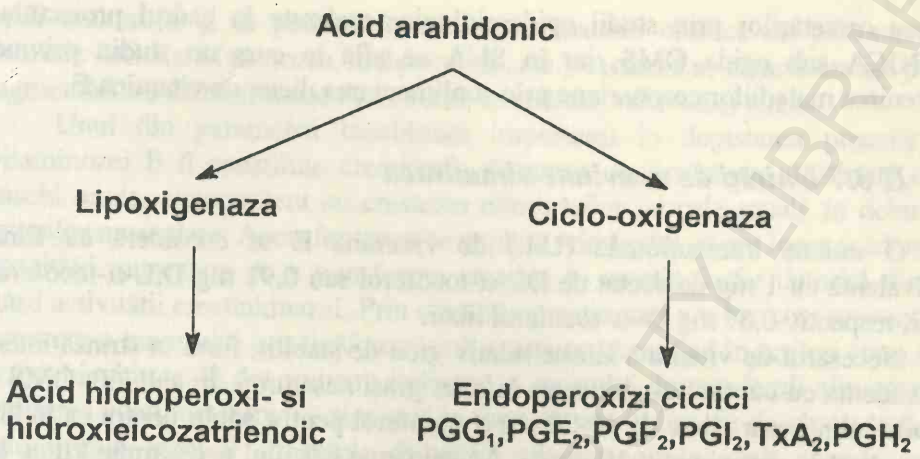
c). Acțiunea tocoferolilor asupra activității unor enzime

În experimente pe animale de laborator s-a observat că insuficiența vitaminei E conduce la o serie de modificări enzimatice cum ar fi diminuarea activității sistemului oxidazic citocrom P_{450}-dependent din fracția microsomală, creșterea activității cAMP-fosfodiesterazei, scăderea respirației celulare, stoparea conversiei ciancobalaminei în forma sa coenzimatică activă și altele. Se consideră că tocoferolii mai acționează și ca represori ai biosintezei proteice dat fiind faptul că insuficiența acestei vitamine conduce la activarea enzimelor căilor catabolice RN-aza, DN-aza, catepsinele etc. Prin diminuarea gradului de incorporare a fosforului în acizii nucleici, hipovitaminoza E inhibă de asemenea proteinogeneza și implicit diviziunea celulară.

d). Rolul vitaminei E în agregarea plachetară

Conținutul crescut în tocoferoli al plachetelor, precum și apariția de microtromboze și trombocitoze în carența vitaminică, au determinat intensificarea cercetărilor asupra rolului vitaminei E în agregarea plachetară.

În experimentele pe șobolani, s-a constatat că hipovitaminoza E induce o creștere a agregării plachetare. Acest fapt poate fi explicat fie prin creșterea permeabilității membranelor față de cationi (Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} etc), fie printr-o modificare a vitezei de biosinteză a prostaglandinelor la nivelul plachetelor, cu atît mai mult cu cît s-a observat și o creștere a concentrației sanguine în PGE_2 și PGF_2.Aceștia sînt produși de oxidare ai acidului arahidonic și sînt cunoscute ca avînd o capacitate mare de agregare. În același timp, oxidarea ciclică a acidului arahidonic este, la rîndul ei, modulată de către peroxiacizii formați prin oxidarea sa neciclică. Tocoferolii acționează asupra acestui sistem complex prin diminuarea activității lipoxidazei plachetare:



Această acțiune este însă diferită, de la un țesut la altul, observîndu-se, de exemplu, efecte la nivelul microsomilor din mușchi și respectiv testicule.

e) Acțiunea tocoferolilor asupra eritrocitelor

În hipovitaminoza E, eritrocitele devin sensibile la hemoliză, efect produs *in vivo* prin acțiunea unor oxidanți cum ar fi H_2O_2.Acest fenomen stă la baza testului biologic de evaluare a activității vitaminice E.

La majoritatea animalelor hipovitaminizate această anomalie nu este însoțită *in vivo* de modificări hematologice.O excepție o constituie maimuțele *Maccacus rhesus* la care se observă după 5-30 luni apariția anemiei macrocitare cu sensibilitate a eritrocitelor față de oxidanți, dismorfism al celulelor precursoare ale eritrocitelor și răspuns terapeutic foarte rapid la tratamentul substitutiv.Această fragilitate a eritrocitelor este cauzată de creșterea rigidității și a permeabilității membranelor globulelor roșii față de ioni.

Tocoferolii intervin, de asemenea, în procesul biosintezei hemului modulînd în felul acesta nu numai biosinteza hemoglobinei ci și a enzimelor hem-dependente (citocromi,catalaza etc.).

Forte recent s-a stabilit posibilitatea existenței unei relații de cauzalitate între nivelul sanguin de tocoferol și incidența aterosclerozei coronariene (P.Duriez, J.C.Fruchard, 1993).Ateroscleroza este o maladie de etiologie extrem de diversă. Lipoproteinele se numără printre factorii ce contribuie la formarea de leziuni arteriale ateromatoase. În studii clinice recente, precum și în cercetări pe animale de experiență, s-a stabilit fără dubii că o creștere a concentrației serice de LDH (Low Density Lipoproteins) se asociază cu o accelerare a procesului de ateroscleroză.

În urma unor observații clinice efectuate pe voluntari cu vîrste cuprinse între 20 și 30 ani, Esterbauer et.al.(1991) au pus în evidență o relație între tocoferolemie și riscul de cardiopatie ischemică. Rezultatele obținute, arată rolul protector al vitaminei E față de ateroscleroza coronariană. Ei propun conti-

nuarea cercetărilor prin studii epidemiologice realizate în cadrul proiectului MONICA sub egida OMS, iar în SUA se află în curs un studiu privind prevenirea maladiilor coronariene prin suplimentarea dietei cu vitamină E.

II 3.7 Unități de activitate vitaminică

O unitate internațională (U.I.) de vitamină E se consideră ca fiind echivalentă cu 1 mg de acetat de DL-α-tocoferol sau 0,91 mg D,L-α-tocoferol liber, respectiv 0,67 mg D–α-tocoferol liber.

Necesarul de vitamină E este relativ greu de stabilit, fiind în strînsă interdependență cu conținutul alimentar în acizi grași nesaturați. În anii '60, OMS a stabilit un necesar zilnic de 13-20 mg α-tocoferol pentru adulți pentru ca în '80 să-l reducă la aproximativ 10 mg/zi. Actualmente calculul necesarului zilnic se face în funcție de conținutul alimentelor în acizi grași nesaturați. Se consideră că raportul optim mg tocoferoli/g acizi grași nesaturați se situează în jurul valorii de 0,6.

Pentu populația nord-americană și vest-europeană, necesarul în vitamină E se consideră a fi de aproximativ 1,2 ori mai mare datorită creșterii ponderii uleiurilor vegetale din alimente. La nou-născuți și la prematuri aportul zilnic de vitamină E se consideră a fi cuprins între 5 și 50 mg, în funcție de alimentație (laptele matern conține acizi grași nesaturați, în special acid linoleic în proporție de aproximativ 8% din totalul lipidelor, în timp ce în laptele de vacă sau preparatele de lapte praf, ponderea acestora este mult mai mare, ajungînd pînă la 50%).

II 3.8 Tulburări de aport vitaminic

Avitaminoza E la om apare foarte greu comparativ cu alte avitaminoze și numai după absența tocoferolilor din alimente un timp îndelungat sau în timpul unor boli pancreatice și hepatice.

Cu toate acestea, carența vitaminei E produce o serie de simptome diferite în funcție de sex și vîrstă. Acestea interesează diferite organe și sisteme, generînd distrofie musculară, creatinurie, degenerarea testiculelor și apariția unor leziuni ireversibile a tubilor seminiferi, moartea și resorbția fătului, anemie hemolitică etc.

a) Influența avitaminozei E asupra sistemului muscular

La nivelul acestui sistem, hipo- și avitaminoza E conduce la apariția distrofiei musculare prin accelerarea activității enzimelor proteolitice la acest nivel și liza parțială a proteinelor musculare. Incidența distrofiei musculare aste mai mare la prematuri, noii-născuți cu tulburări la nivelul absorbției intestinale,

copiii malnutriți și la persoanele adulte cu maladii cronice ce provoacă o absorbție deficitară (steatoree, malabsorbție, etc.). Această se caracterizează prin fragmentări ale fibrelor musculare, edem interstițial, necroză și altele.

Unul din parametrii biochimici importanți în depistarea precoce a avitaminozei E îl constituie creatinuria deoarece cantitatea de creatinină din mușchi scade, concomitent cu creșterea eliminărilor pe cale renală în debutul leziunilor musculare. Acest fenomen se explică prin faptul că are loc o scădere a capacității musculare de a transforma creatina în creatin-fosfat datorită diminuării activității creatinkinazei. Prin creșterea creatinuriei are loc concomitent și o creștere a raportului creatină/creatinină acesta reprezentînd în același timp un alt test biochimic de determinare indirectă a aportului de tocoferoli alimentari. Instituirea vitaminoterapiei acționează în mod diferit, în funcție de vîrstă:dacă la copii primul efect îl constituie dispariția creatinuriei, la adult aceasta mai persistă încă mult timp.

Datorită faptului că mușchiul cardiac conține o cantitate aproximativ dubla de tocoferoli (în special sub formă de tocoferilchinone) comparativ cu citocromul c, se presupune că vitamina E participă și la metabolismul cardiac, insuficiența ei putînd conduce la insuficiența miocardului.

Accelerarea procesului de proteinoliză conduce la aminoacidurie și alantoinurie. Distrofia musculară este de fapt un proces mai complex ce constă într-o accelerare a catabolismului componenților celulari (glucide, proteine, acizi nucleici). Această intensificare a proceselor catabolice se explică prin creșterea fragilității mitocondriilor și lizozomilor în carența vitaminei E, fapt ce conduce la o creștere a eliberării hidrolazelor din aceste organite celulare.

b). Anemia hemolitică

Aceasta a reprezentat primul sindrom caracteristic, atribuit deficitului de vitamină E, descris la om. Se întîlnește cu precădere la prematuri la care se observă anemie cu reticulocitoză după 4-6 săptămîni. Uneori ea este însoțită de edeme ale membrelor inferioare. Crește concomitent gradul de autohemoliză. Se presupune existența mai multor factori ce contribuie la instalarea avitaminozei E la prematuri: rezervele scăzute de tocoferoli ale foetus-ului (3-7 mg/kg comparativ cu 50-160 mg/kg la adulți), nivelul scăzut al absorbției digestive în primele 3 luni, conținutul scăzut al laptelui matern în tocoferoli (5-6 mg/l), ponderea mare a acizilor grași nesaturați în laptele praf etc.

Prin tratamentul cu tocoferoli la copiii mici (sub 3 ani) care prezentau anemie megaloblastică rezistentă la ciancobalamină și acid folic, s-a observat o creștere rapidă a hematiilor cu normalizarea hemoleucogramei și mielogramei.

Cu toate acestea, observațiile clinice și datele experimentale privind apariția anemiei hemolitice la prematuri ca urmare a instalării avitaminozei E rămîn contradictorii, necesitînd aprofundarea în acest domeniu.

c). Sindromul neurodegenerativ

La copiii născuți la termen, cu un stoc vitaminic normal, dar care ulterior nu poate fi reînnoit din cauza unei absorbții intestinale defectuoase, se dezvoltă progresiv hipovitaminoza E cu manifestări, în primul rînd, neurologice. Cuplată cu insuficiența pancreato-biliară, aceasta determină și hipoplazia biliară intrahepatică, cînd absorbția intestinală este puternic afectată, sau hepatopatie, o formă relativ ușoară cînd organismul supraviețuiește un timp destul de îndelungat. Principalele elemente ale sindromului neurodegenerativ sînt următoarele:

- **disfuncționalități periferice** de tipul polineuropatiei, nemanifeste pînă la 6-10 ani. Studiul anatomic relevă degenerescență axonală și depozite lipopigmentare intraneurale și în celulele Schwan. Distrofia musculară se dezvoltă concomitent cu o denervare cronică și miopatie, însoțită de degenerescența lipopigmentară a fibrelor musculare;
- **disfuncționalități la nivelul sistemului nervos central** care se manifestă clinic prin tulburări oculomotorii conjugate, ataxie și atrofie corticală la nivelul cerebelului etc.

Leziunile neuropatologice la om au fost descrise, în mare parte, înaintea descrierii simptomelor clinice, cu ajutorul datelor obținute prin necropsia pacienților decedați în urma atreziei biliare. S-au observat în toate cazurile dilatații axonale de formă sferică ce conduc la degenerescența fibrelor nervoase.

- **disfuncționalități retiniene** care debutează prin modificări ale electroretinogramei și continuă prin retinopatie pigmentară oftalmoscopică. Aceste disfuncționalități sînt legate probabil de faptul că acțiunea antioxidantă a tocoferolilor se manifestă și față de retinol, iar avitaminoza E conduce implicit și la o creștere a utilizării vitaminei A.

d). Influența avitaminozei E asupra organelor genitale și embrionului

Cînd embriogeneza are loc într-un organism matern cu carență vitaminică E, are loc mai întîi o dereglare a dezvoltării cavității ectodermice, apoi la nivel placentar, cu perturbarea proliferării vasculare fetale.

La bărbați, atrofia testiculară este cauzată de o degenerescență ireversibilă a epiteliului tubilor seminiferi în avitaminoza E avansată. Spermatozoizii își pierd mobilitatea după care dispar complet. Aceste leziuni sînt reversibile doar dacă tratamentul se instituie în debutul simptomelor carențiale. Se consideră că procesele degenerative devin ireversibile în momentul în care dispar spermatozoizii.

La femei, în primul stadiu al carenței nu apar leziuni morfologice sau funcționale ale ovarelor, modificări ale aparatului genital feminin apărînd doar în stadiile avansate ale avitaminozei. Acestea se manifestă prin degenerarea

musculaturii netede uterine, pigmentarea crescută a acesteia cu fibromatoză etc.

e). Influența avitaminozei E asupra mecanismului imunitar

La păsările și mamiferele cu carență în vitamină E s-au observat modificări ale imunității umorale, ale răspunsului limfocitar, ale răspunsului față de infecțiile bacteriene precum și ale răspunsului anafilactic.

II.3.9. Substanțe cu acțiune antagonistă tocoferolilor

Există numeroase substanțe chimice naturale sau sintetice care pot fi sau nu analogi structurali ai tocoferolilor și care provoacă simptome asemănătoare cu cele descrise pentru avitaminoza E. S-a observat astfel că α-tocoferil-chinona produce sterilitate la animalele de experiență, iar acetatul de p-cresol, tricrezil-fosfatul și 3,5-wilenolul acționează prin efectele toxice care conduc la o deficiență de tocoferoli. Printre antivitaminele E citate în literatură se mai numără piridina, bisulfitul de sodiu, sulfamidele, acizii grași nesaturați și altele.

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

II.4 VITAMINELE K (FILOCHINONE, VITAMINELE COAGULĂRII, VITAMINE ANTIHEMORAGICE, FACTOR PROTROMBINIC)

II.4.1. Generalități

Dintre vitaminele liposolubile, vitamina K este cea mai recent descoperită. Sub termenul de "vitamină K" este reunit un ansamblu de substanțe liposolubile, derivate de la nucleul 2-metil-1,4-naftochinonic ce participă în principal la activarea unor factori ai coagulării sanguine: protrombina(II), proconvertina(VII), factorul antihemolitic B(IX), factorul Stuart (X) și proteinele C și S descoperite recent.

În urma unor cercetări efectuate în 1929 pe pui de găină privind studiul metabolismului colesterolului, H.Dam observă apariția unor hemoragii sanguine care nu cedează la administrarea vitaminelor C, A, D și E cunoscute deja în acea vreme. În urma acestor observații, Dam postulează existența unui nou factor liposolubil pe care îl denumește vitamină K după termenul danez *Koagulation.*

În aceeași perioadă Schönheyder remarcă absența protrombinei la animalele de experiență hrănite în mod similar.

Existența vitaminei K este confirmată șase ani mai tîrziu, cînd Almquist arătă că ea se poate forma în timpul procesului de putrefacție vegetală și reușește obținerea unui preparat relativ pur prin extracție din lucernă. După 1937 sindromul hemoragic a mai fost descris și în alte condiții experimentale sau patologice la mamifere.

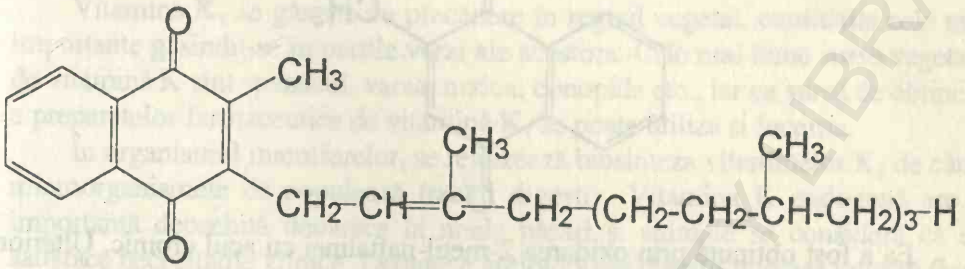
În 1939 este descifrată structura chimică a vitaminei K_1, iar sinteza ei chimică a fost făcută prima dată de către Boissy, realizare pentru care autorul primește în 1943 împreună cu Dam, premiul Nobel. Abia după 1960 a fost clarificat mecanismul de acțiune al vitaminei K asupra factorilor coagulării sanguine.

II.4.2. Structura chimică și proprietățile vitaminelor K

Toate vitaminele K, naturale sau sintetice, au comun nucleul 2-metil-1,4-naftochinonic.

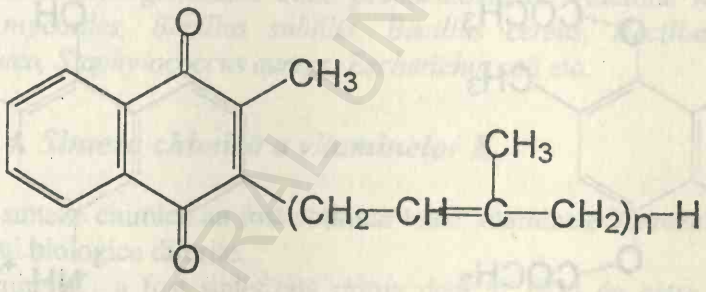
În prezent se cunosc două forme naturale (notate K_1 și K_2) și mai mulți derivați sintetici ai acestei vitamine.

1. Vitamina K_1 (*filochinona* sau *fitomenadiona*) este 2-metil-3-fitil-1,4-naftochinona:



A fost izolată din frunzele de lucernă, urzici, tomate, iar mai tîrziu din ficatul mamiferelor. Este un lichid uleios ce cristalizează la - 20°C. Se degradează foarte ușor sub acțiunea luminii și în mediu alcalin, precum și în prezența oxigenului din aer.

2. Vitamina K_2 (*farnochinona* sau *menachinona*) este 2-metil-3-difarnezil-1,4-naftochinona:

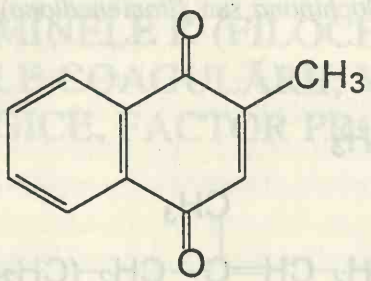


A fost izolată prima dată în 1939 din făina de pește. Se prezintă sub forma unui compus de culoare galbenă, optic activ. Faptul că farnochinona se găsește doar în făina de pește intrată în putrefacție, dar nu și în carnea proaspătă de pește, denotă faptul că acestă vitamină este sintetizată de către bacteriile de putrefacție. De altfel, flora microbiană intestinală umană sintetizează importante cantități de vitamină K_2. Ca și filochinona, este insolubilă în apă, dar solubilă în diferiți solvenți organici și în grăsimi.

În funcție de numărul atomilor de carbon din catena laterală, vitamina K_2 este de fapt un amestec de mai multe vitamine, notate $K_{2(10)}$, $K_{2(20)}$, $K_{2(30)}$, $K_{2(35)}$, $K_{2(40)}$, $K_{2(50)}$, în care indicele din paranteză definește lungimea acestei catene.

Dacă vitaminele K_1 și K_2 sînt tipic liposolubile, formele sintetice ale vitaminei K sînt solubile în apă.

3. Vitamina K_3 (*menadiona*) este 2-metil-1,4-naftochinona:

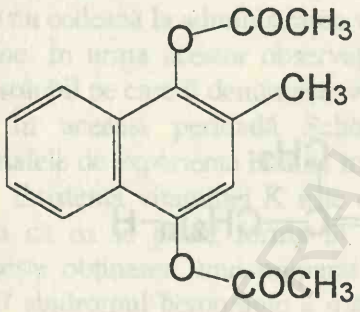


Ea a fost obținută prin oxidarea 2-metil-naftalinei cu acid cromic. Ulterior a fost obținută și prin alte metode de sinteză chimică.

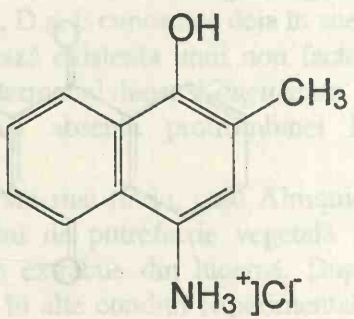
Este o substanță cristalină care se descompune ușor la lumină. Față de piele și căile respiratorii este iritantă, iar soluția sa alcalină este vezicantă.

4. Vitamina K_4 (*menadiolul*) nu este utilizabilă în practica medicală, dar ea constituie precursorul în sinteza filochinonei.

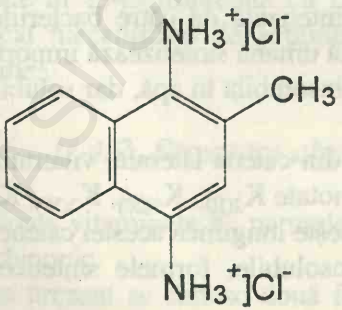
5. Vitaminele K_5, K_6 și K_7 sînt ușor solubile în apă și au fost obținute din 2-metil-naftalină.



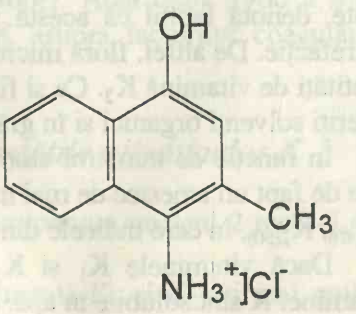
Vitamina K_4



Vitamina K_5



Vitamina K_6



Vitamina K_7

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

II.4.3. Starea naturală

Vitamina K_1 se găsește cu precădere în regnul vegetal, cantitățile cele mai importante găsindu-se în părțile verzi ale acestora. Cele mai bune surse vegetale de vitamină K sînt spanacul, varza, urzica, conopida etc., iar ca sursă de obținere a preparatelor farmaceutice de vitamină K_1 se poate utiliza și lucerna.

În organismul mamiferelor, se realizează biosinteza vitaminelor K_2 de către microorganismele ce populează tractul digestiv. Vitamina K endogenă are o importanță deosebită deoarece la unele păsări și animale se consideră că ea satisface necesitățile zilnice. Deoarece antibioticele distrug în mare măsură flora microbiană digestivă, în tratamentul diferitelor boli cu antibiotice sau sulfamide administrate pe cale bucală, se ține seama de creșterea necesarului de vitamină K exogenă.

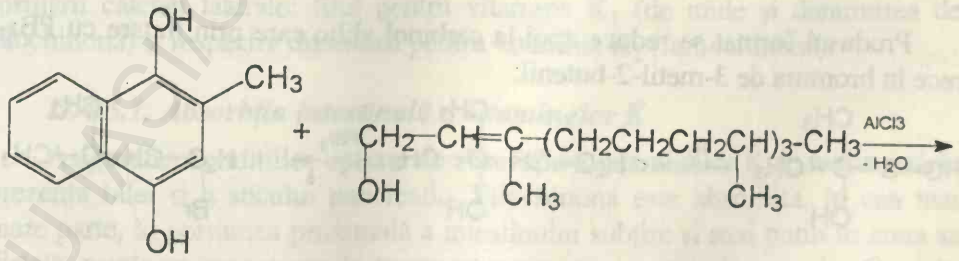
O parte din vitamina K endogenă se elimină prin fecale, dar anumite cantități se acumulează în organism, în special în mușchi și ficat, motiv pentru care ficatul și mușchiul de porc, oaie, găină, vită etc. constituie o altă sursă vitaminică pentru om.

Printre microorganismele bune producătoare de vitamină K se numără *Bacillus mycoides, Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Bacillus aerogenes, Sarcina lutea, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* etc.

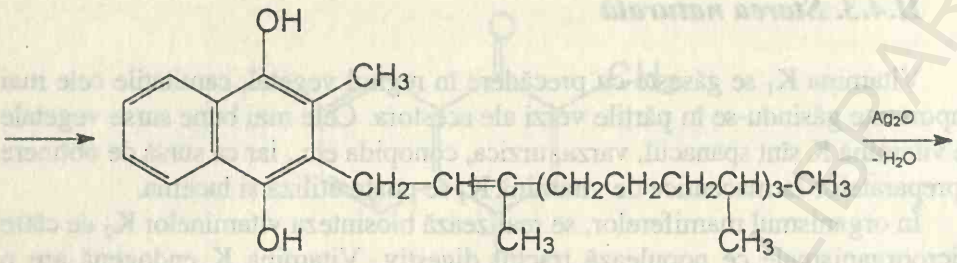
II.4.4. Sinteza chimică a vitaminelor K

Prin sinteze chimice au fost obținute toate vitaminele K, rezultînd produși cu activități biologice diferite.

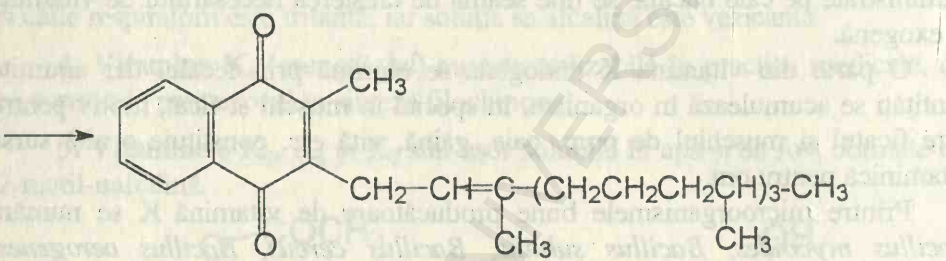
Vitamina K_1 a fost sintetizată prima dată în 1934 de către Almquist și Klose plecînd de la fitol și menadionă, respectiv bromură de fitil și menadiol. Într-o primă fază se realizează o condensare în prezența unor catalizatori ($AlCl_3$, $KHSO_4$, $ZnCl_2$). Se formează dihidroxi-vitamina K_1 care apoi, în prezența Ag_2O se oxidează dînd vitamina K_1:



menadiol fitol

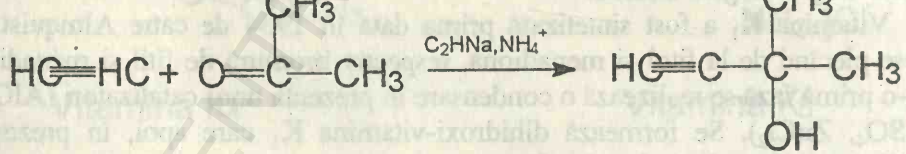


dihidroxivitamina K_1

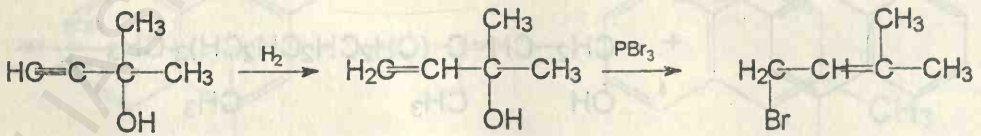


vitamina K_1

Pentru sinteza vitaminei K_2 se realizează mai întîi condensarea acetilenei cu acetona în prezența acetilurii monosodice și amoniacului:

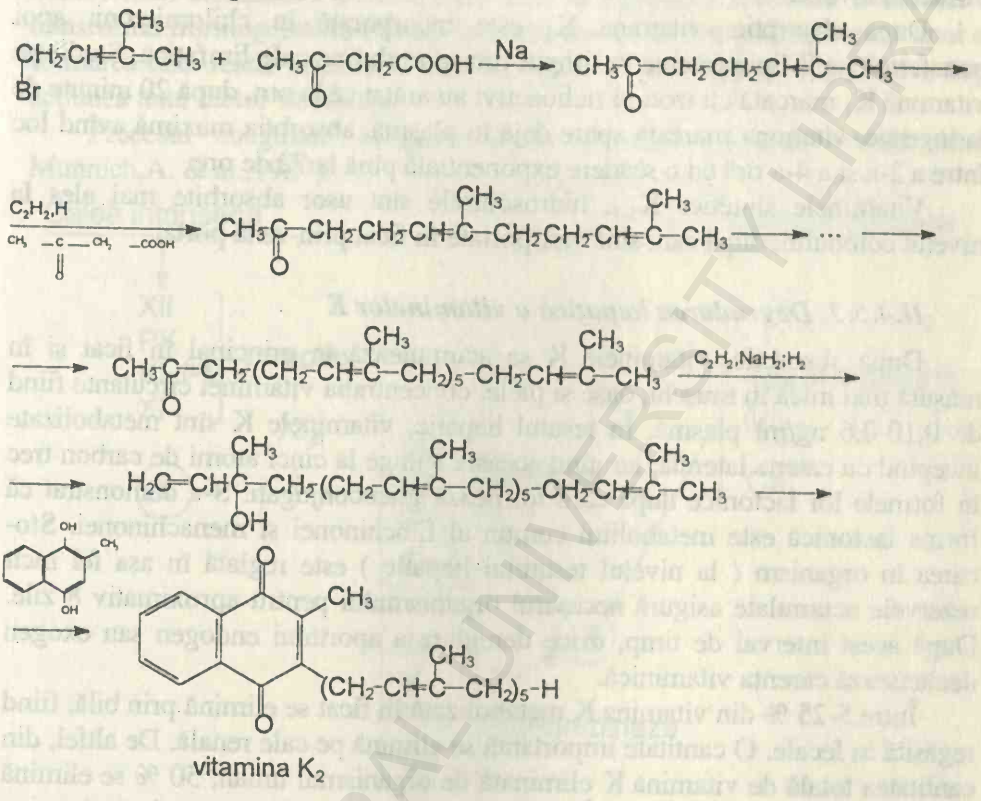


Produsul format se reduce apoi la carbinol alilic care prin tratare cu PBr_3 trece în bromura de 3-metil-2-butenil:



Derivatul bromurat rezultat reacționează cu acidul acetilacetic, iar la produsul intermediar format se mărește catena cu o unitate izoprenică pentru a

forma geranil-acetona. Ultimele operații se repetă apoi pentru introducerea a încă trei unități izoprenoidice:



II.4.5. Metabolismul vitaminelor K

În plantele verzi și în unele microorganisme are loc procesul de biosinteză a vitaminei K_1 respectiv K_2 prin utilizarea, în calitate de precursori, a 2-metil-naftochinonei și acidului mevalonic. La rîndul lui, mevalonatul stă la baza formării catenei laterale: fitol pentru vitamina K_1 (de unde și denumirea de filochinonă) și respectiv difarnezil pentru vitamina K_2 (farnochinonă).

II.4.5.1. Absorbția intestinală a vitaminelor K

Asigurarea condițiilor optime de absorbție a vitaminelor K se realizează în prezența bilei și a sucului pancreatic. Filochinona este absorbită, în cea mai mare parte, în porțiunea proximală a intestinului subțire și mai puțin în zona sa distală, printr-un mecanism de transport activ, cu consum de energie. Ca și în cazul celorlalte vitamine liposolubile, gradul de absorbție intestinală mai este influențat și de alți factori. De exemplu, pH-ul ușor acid favorizează absorbția în

timp ce un conținut crescut în acizi grași nesaturați cu catenă mare au o influență inversă.

După absorbție, vitamina K_1 este incorporată în chilomicroni, apoi transferată pe β-lipoproteine în timpul transportului pe cale limfatică. Studii pe vitamină K_1 marcată cu izotopi radioactivi au arătat că la om, după 20 minute de la ingestie, vitamina marcată apare deja în plasmă, absorbția maximă avînd loc între a 2-a și a 4-a oră cu o scădere exponențială pînă la 72 de ore.

Vitaminele sintetice K_{3-7}, hidrosolubile sînt ușor absorbite mai ales la nivelul colonului, după care sînt transportate în ficat prin vena portă.

II.4.5.2. Degradarea hepatică a vitaminelor K

După absorbție, vitaminele K se acumulează în principal în ficat și în măsură mai mică în mușchi, oase și piele, concentrația vitaminei circulante fiind de 0,10-0,6 ng/ml plasmă. În țesutul hepatic, vitaminele K sînt metabolizate începînd cu catena laterală, iar cînd aceasta ajunge la cinci atomi de carbon trec în formele lor lactonice după care formează glicoconjugați. S-a demonstrat că forma lactonică este metabolitul comun al filochinonei și menachinonei. Stocarea în organism (la nivelul țesutului hepatic) este reglată în așa fel încît rezervele acumulate asigură necesarul organismului pentru aproximativ 8 zile. După acest interval de timp, orice dereglare a aportului endogen sau exogen declanșează carența vitaminică.

Între 5-25 % din vitamina K metabolizată în ficat se elimină prin bilă, fiind regăsită în fecale. O cantitate importantă se elimină pe cale renală. De altfel, din cantitatea totală de vitamină K eliminată de organismul uman, 50 % se elimină prin urină și 50 % prin fecale. În acest din urmă caz, 20 % reprezintă vitamina neabsorbită și 30 % cea absorbită la nivel intestinal, metabolizată în ficat și eliminată prin bilă în fecale.

II.4.6. Rolul biologic al vitaminelor K

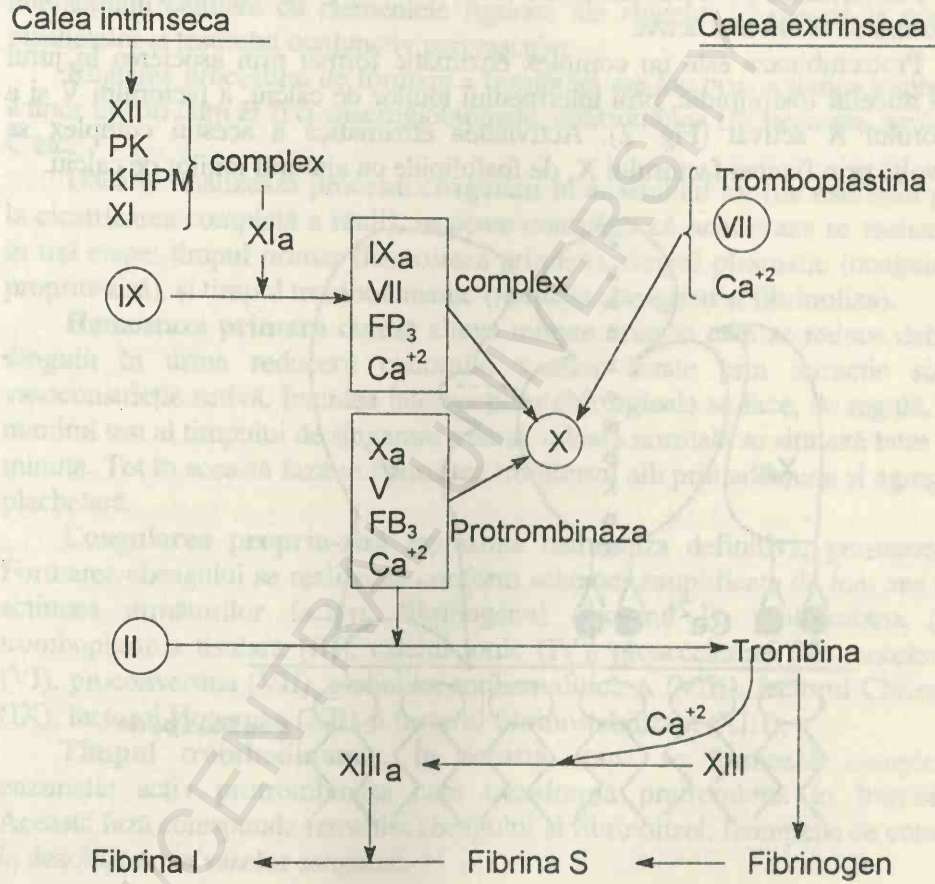
Principala funcție a vitaminelor K pentru animale și om o constituie participarea în procesul coagulării sanguine, dar și în oxidoreducerile celulare sau în metabolismul osos.

II.4.6.1. Rolul vitaminelor K în coagularea sîngelui

Hemostaza este un proces opus hemoragiei care se realizează *in vivo* ca un proces de apărare. Ea poate fi *primară*, cînd se realizează sub acțiunea factorilor vasculari și plachetari și *coagulare propriu-zisă* realizată sub acțiunea factorilor plasmatici. Hemostaza se realizează prin formarea unei pelicule de fibrină care acoperă endoteliul vascular.

Procesul începe sub acțiunea unui factor ce declanșează o multitudine de transformări enzimatice al căror efect final îl reprezintă formarea trombinei ce transformă fibrinogenul în fibrină. Moleculele de fibrină polimerizează apoi cu formarea unei rețele organizate care își capătă proprietățile sale definitive după acțiunea unui factor stabilizator.

Procesul coagulării sanguine poate fi redat schematic astfel (după Munnich,A. & al.,1987):



FP_3 - fosfolipide plachetare;
PK - prekallicreină;
KHPM- kininogen cu masă moleculară mare
IX_a, X_a, XI_a - factorii IX, X și respectiv XI activati.
Factorii încercuiți sînt cei care necesită intervenția vitaminei K.

Procesul de coagulare sanguină este alcătuit din două etape principale: formarea fibrinei și respectiv formarea trombinei, această a doua etapă fiind modulată de inhibitori specifici.

a). Formarea fibrinei

Trombina este o enzimă proteolitică ce catalizează transformarea fibrinogenului solubil în monomeri de fibrină. Polimerizarea acestora sub influența factorului XIII conduce la formarea cheagului de sînge în două etape: formarea fibrinei solubile (S) și apoi a fibrinei insolubile (I).

b) Formarea trombinei

Sub acțiunea protrombinazei are loc o scindare proteolitică a protrombinei cu formarea trombinei active.

Protrombinaza este un complex enzimatic format prin asocierea în jurul unui miceliu fosfolipidic, prin intermediul ionilor de calciu, a factorului V și a factorului X activat (Fig. 2). Activitatea enzimatică a acestui complex se dezvoltă prin fixarea factorului X_a de fosfolipide cu ajutorul ionilor de calciu.

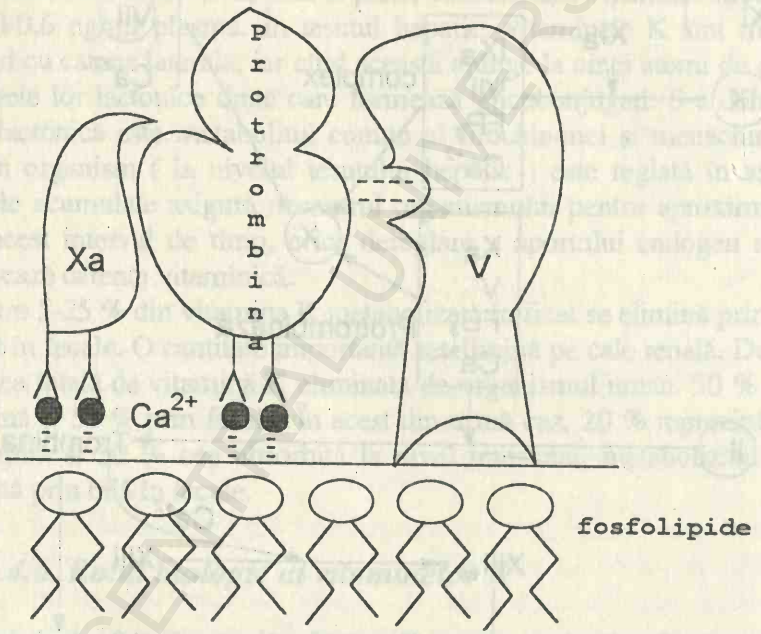


Figura 2. *Reprezentarea schematică a structurii protrombinazei (după Munnich, A. et al.)*

Factorul V are rolul de a accelera procesul de activare a protrombinei. Anterior acestui proces are loc activarea factorului X care se realizează *in vitro* pe două căi diferite în funcție de mecanismul ce declanșează coagularea:

- **calea extrinsecă**: factorul X este activat (X_a) de către tromboplastina tisulară și factorul VII în prezența ionilor de calciu;
- **calea intrinsecă:** factorul X este activat de către produsul interacțiunii

factorilor VIII și IX cu fosfolilipidele în prezența ionilor de calciu. Activarea factorului IX are loc în prezența calciului prin acțiunea proteolitică a sistemului de contact ce ia naștere prin interacțiunea factorilor XI și XII. Acesta din urmă este activat la rîndul său în prezența prekallicreinei și chininogenului cu masă moleculară mare, și nu necesită prezența calciului.

Această schemă a coagulării sanguine este mult simplificată. Ansamblul fenomenelor ce au loc *in vivo* sînt în strînsă interdependență cu mecanismele interacțiunii celulare cu elementele figurate ale sîngelui în special la nivelul plachetelor și țesutului conjunctiv perivascular.

Reglarea procesului de formare a trombinei are loc prin acțiunea inhibantă a unor factori cum ar fi α-macroglobulinele, antitrombina III, heparina, proteina C etc.

Dacă se analizează procesul coagulării în ansamblul lui (de exemplu pînă la cicatrizarea completă a rănii), se poate considera că hemostaza se realizează în trei etape: timpul primar (hemostaza primară), timpul plasmatic (coagularea propriu-zisă), și timpul trombodinamic (retracția cheagului și fibrinoliza).

Hemostaza primară durează cîteva minute timp în care se reduce debitul sanguin în urma reducerii calibrului vaselor lezate prin retracție și/sau vasoconstricție activă. Inaintea intervențiilor chirurgicale se face, de regulă, așă numitul test al timpului de sîngerare a cărui valoare normală se situiază între 2-4 minute. Tot în această fază se constituie trombusul alb prin adeziune și agregare plachetară.

Coagularea propriu-zisă reprezintă hemostaza definitivă, permanentă. Formarea cheagului se realizează conform schemei simplificate de mai sus sub acțiunea următorilor factori: fibrinogenul (factorul I), protrombina (II), tromboplastina tisulară (III), calciul ionic (IV), proaccelerina (V), accelerina (VI), proconvertina (VII), globulina antihemolitică A (VIII), factorul Chrismas (IX), factorul Hogeman (XII) și factorul fibrinostabilizant (XIII).

Timpul trombodinamic. În această etapă se formează complexul enzimatic activ protrombinaza care transformă protrombina în trombină. Această fază corespunde retracției cheagului și fibrinolizei, fenomene ce conduc la dezobstruarea vaselor sanguine.

Mecanismul de acțiune al vitaminei K asupra factorilor coagulării sanguine

Vitamina K intervine în activarea a cel puțin șase factori ai coagulării sanguine: II, VII, IX, X, proteina C și proteina S. Proteina C este o proteină plasmatică recent descoperită al cărei rol constă în neutralizarea factorilor V și VIII activați. Activarea proteinei C se face la rîndul ei sub acțiunea altei proteine plasmatice notate cu S.

Proteinele C și S sînt deci implicate similar în procesul de formare a trombinei care constituie enzima esențială a procesului de coagulare. În 1968,

Josso și Ganrot au demonstat, separat unul de celălalt, existența unei protrombine anormale în plasma pacienților supuși unui tratament cu warfarină, un anticoagulant antagonist vitaminei K. Această protrombină anormală, lipsită de activitate coagulantă și recunoscută de anticorpii antiprotrombinici a fost numită PIVKA II (Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonism II) și conține aceleași resturi glucidice ca și protrombina normală.

Din punct de vedere funcțional, PIVKA II este capabilă să genereze o oarecare activitate trombinică în prezența veninului de *Echis carinatus* și a staphylocoagulazei, dar nu poate fi convertită în trombină de către factorul X_a în prezența calciului și a fosfolipidelor.

În 1974 Stenflo et.al. pun în evidență la capătul N-terminal al protrombinei activate un aminoacid specific - acidul γ-carboxi-glutamic - absent în protrombina anormală PIVKA II. Ulterior s-a demonstrat că și alți factori vitamină K-dependenți conțin la extremitatea lor N-terminală acidul γ-carboxiglutamic. Factorii II și VII conțin 10 resturi ale acestui aminoacid din cei 40 de aminoacizi ai fragmentului N-terminal, iar factorii IX, X și proteina C conțin 12 asemenea resturi în același fragment.

II.4.6.2. Rolul vitaminei K în oxidoreducerile tisulare și alte activități enzimatice

Datorită prezenței a două grupe carboxilice libere, acest aminoacid este capabil să fixeze calciul. În felul acesta, factorii vitamină K-dependenți sînt proteine capabile să fixeze calciul, această proprietate stînd la baza activității lor biologice deoarece calciul servește drept ligand între proteine și fosfolipide.

Rolul biochimic al vitaminei K în formarea acidului γ-carboxi-glutamic din structura proteinelor coagulării a fost elucidat relativ recent și se presupune că această vitamină funcționează ca un cofactor al unei carboxilaze hepatice.

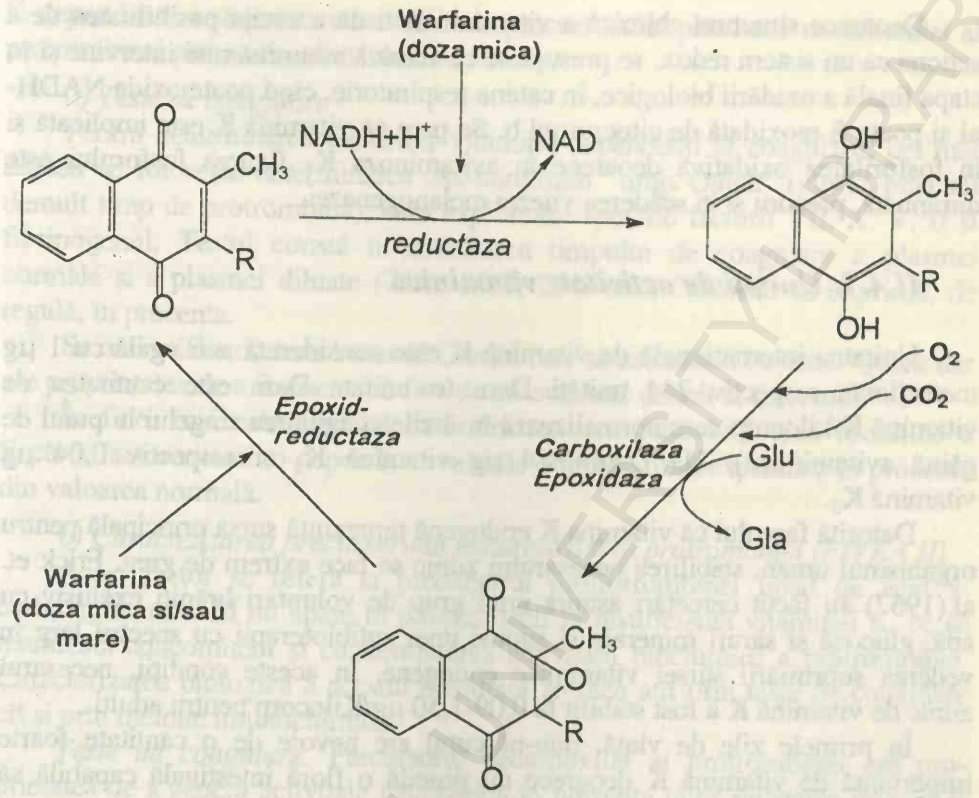
Vitamina K suferă o serie de modificări în cursul unui ciclu de carboxilare, ciclu ce are loc în trei etape:

a) reducerea vitaminei K în prezența NADH;

b) epoxidarea vitaminei K într-o reacție conjugată cu carboxilarea glutamatului;

c) reducerea 2,3-epoxi-vitaminei K.

Aceste transformări enzimatice au loc în hepatocite în faza posttranslațională a biosintezei proteinelor vitamină K-dependente, în momentul în care se formează punțile disulfurice și se realizează glicozilarea. Ele dau proteinelor coagulării proprietățile structurale și funcționale definitive. Warfarina inhibă unele etapa ale acestui proces în concentrații diferite:



Glu - acid glutamic
Gla - acid γ-carboxiglutamic

Mai există două proteine, notate M și Z, sintetizate probabil în ficat, ale căror secvențe de aminoacizi la extremitățile N-terminale sînt similare cu cele de la protrombină. Aceste proteine sînt, de asemenea, vitamină K-dependente, iar rolul lor biochimic rămîne încă neelucidat. Carboxilaza vitamină K-dependentă mai este prezentă și în alte țesuturi. Pe de altă parte, în țesutul osos a fost descoperită o altă proteină - osteocalcina - ce conține, de asemenea, acid γ-carboxiglutamic (3 resturi Gla din totalul de 49 resturi de aminoacizi).

S-a observat că la copiii nou-născuți, ale căror mame au făcut tratament cu diferiți antagoniști ai vitaminei K în primul trimestru de sarcină, pot apărea unele anomalii la nivelul epifizelor osoase. Datorită acestui fapt, se consideră că osteocalcina joacă un rol important în mineralizarea țesutului osos, printr-un mecanism rămas încă necunoscut.

Proteine ce conțin acid γ-carboxiglutamic mai sînt sintetizate în rinichi, placentă, pancreas etc., dar în nici unul din aceste cazuri, rolul lor biologic nu este încă elucidat.

Deoarece structura chimică a vitaminei K îi dă acesteia posibilitatea de a acționa ca un sistem redox, se presupune că această vitamină mai intervine și în etapa finală a oxidării biologice, în catena respiratorie, cînd poate oxida NADH-ul și poate fi reoxidată de citocromul b. Se pare că vitamina K este implicată și în fosforilarea oxidativă deoarece în avitaminoza K_1 fixarea fosforului este diminuată, precum și în scăderea vitezei melanogenezei.

II.4.7. Unități de activitate vitaminică

Unitatea internațională de vitamină K este considerată a fi egală cu 1 μg menadionă, respectiv 244 unități Dam (o unitate Dam este cantitatea de vitamină K/kilocorp care normalizează în 3 zile coagularea sîngelui la puiul de găină avitaminizat). 1U Dam=0.14 μg vitamină K_2 și respectiv 0,04 μg vitamină K_3.

Datorită faptului că vitamina K endogenă reprezintă sursa principală pentru organismul uman, stabilirea necesarului zilnic se face extrem de greu. Frick et. al.(1967) au făcut cercetări asupra unui grup de voluntari hrăniți exclusiv cu apă, glucoză și săruri minerale și supuși unei antibioterapii cu spectru larg în vederea suprimării sursei vitaminice endogene. În aceste condiții, necesarul zilnic de vitamină K a fost stabilit la 0,09-1,50 μg/Kilocorp pentru adulți.

În primele zile de viață, nou-născutul are nevoie de o cantitate foarte importantă de vitamină K deoarece nu posedă o floră intestinală capabilă să asigure sursa de vitamină endogenă.

De asemenea, tratamentul cu antibiotice, sulfamide, aspirină etc. cresc necesitățile zilnice de vitamină exogenă, deoarece în acest caz scade mult biosinteza bacteriană de vitamină endogenă.

În fine, necesarul zilnic este în strînsă interdependență și cu temperatura mediului ambiant, fiind mult mai crescut în anotimpurile călduroase.

II.4.8. Tulburări de aport vitaminic

Spre deosebire de celelalte vitamine liposolubile, identificarea stărilor de hipo- sau hipervitaminoză K la om este mai dificilă, dat fiind că o mare parte din necesarul zilnic de vitamină K îl reprezintă sursa endogenă.

II.4.8.1. Explorarea funcțională a tulburărilor de aport vitaminic

Metodele de explorare funcțională a tulburărilor de aport vitaminic se referă doar la determinarea stărilor de hipovitaminoză K, utilizîndu-se teste de explorare a hemostazei. În acest scop se folosesc două categorii de metode: teste de coagulare prin care se evaluează scăderea concentrației foctorilor vitamină

K-dependenți și respectiv caracterizarea precursorului plasmatic necarboxilat al protrombinei prin teste imunochimice.

a) Teste de coagulare

Pentru determinarea factorilor vitamino-dependenți ai coagulării, cel mai adesea se folosește determinarea așa-numitului "timp Quick" (numit pînă nu demult timp de protrombină), care explorează specific factorii VII, X, V, II și fibrinogenul. Testul constă în măsurarea timpului de coagulare a plasmei normale și a plasmei diluate (75%; 50%; 25% etc.). Valorile se exprimă, de regulă, în procente.

Se mai utilizează trombotestul Owren care se aseamănă cu testul Quick dar are proprietatea de a fi insensibil față de un eventual deficit al factorului V.

În fine, mai este posibilă determinarea activitații biologice specifice a fiecărui factor vitamino-dependent, valorile obținute fiind exprimate în procente din valoarea normală.

b) Caractezizarea precursorului necarboxilat al protrombinei (PIVKA II)

Acest factor se referă la precursorul protrotrombinei lipsit de acid γ-carboxiglutamic. El nu apare în plasmă decît în insuficiența vitaminei K, ce se manifestă concomitent și cu diminuarea activității biochimice a protrombinei. Caracterizarea biologică a acestui precursor se face atît prin teste de coagulare cît și prin metode imunochimice.

Teste de coagulare. Precursorul necarboxilat al protrombinei are proprietatea de a genera activitate trombinică în prezența unor substanțe cum ar fi veninul șarpelui *Eschis carinatus* sau staphylocoagulaza. Această proprietate stă la baza testelor clinice care sînt, în general, ușor de realizat în laboratoarele utilate corespunzător.

- *Teste imunochimice.* Anticorpii antiprotrombinici au proprietatea de a recunoaște simultan protrombina activă și precursorul său necarboxilat. Aceste două molecule se pot separa prin metode imunoelectroforetice (de exemplu prin imunoelectroforeză bidimensională în tampon lactat de calciu-acid lactic) și evidențiate, sub forma a două spoturi, cu ajutorul anticorpilor antiprotrombinici. Această metodă este foarte laborioasă și sensibilă, motiv pentru care nu poate fi aplicată decît în laboratoare utilate în mod corespunzătoare.

II.4.8.2 Hipovitaminoza K

Deficitul în vitamină K se manifestă clinic în mod diferit în funcție de amploarea carenței. Aceasta din urmă, la rîndul ei,poate fi cauzată de mai mulți factori: aport alimentar scăzut, malabsorbție,anomalii genetice ale factorilor de coagulare vitamino-dependenți etc.

a) Carența cauzată de aportul scăzut de vitamină exogenă și malabsorbție

În carența severă, sindromul clinic cel mai caracteristic, îl constituie sindromul hemoragic vitamino-dependent, diferit de alte modificări ale hemostazei. Efectul biologic constă în modificarea testelor hemostazei care interesează factorii vitamino-dependenți, scăderea concentrației sanguine a factorilor II, VII, IX, X, proteinei C și apariția în plasmă a precursorilor lor necarboxilați. Factorul V nu este afectat de carența vitaminei K.

Vitamina K exogenă, precum și cea sintetizată de flora microbiană, este absorbită în segmentul distal al intestinului subțire, absorbția fiind favorizată de prezența bilei.

Există trei cauze majore care pot conduce la instalarea stării de hipo- sau avitaminoză K.

- *aport insuficient* observat la omul adult în cazul tratamentelor prelungite cu antibiotice sau sulfamide și alimentație săracă în vitamină K, iar la nou-născuți insuficienta dezvoltare a florei microbiene intestinale;

- *absorbție defectuoasă* observată în obstrucții și fistule biliare, malabsorbție (în rezecții intestinale, colită ulceroasă,ileită, enterocolită etc.);

- *cauze toxice* ce apar în cazul îngerării de antivitamine K, supradozării vitaminei A (datorită competiției hepatice) și tratament cu antibiotice cu spectru larg în asociație cu aport insuficient.

Cazul particular al hipovitaminozei nou-născutului necesită o atenție deosebită datorită problemelor specifice pe care le pune. Nivelul factorilor vitamino-dependenți și a vitaminei K la nou-născut reprezintă 40-50% din necesar la naștere din următoarele motive:

- rezervele limitate de vitamină K de origine maternă din cauza transportului transplacentar redus;

- insuficiența biosintezei proteinelor de origine hepatică (imaturitate hepatică);

- lipsa florei microbiene intestinale proprii în perioada neonatală.

În această perioadă, riscul carenței este foarte crescut și justifică suplimentarea sistematică cu vitamină K la toți nou-născuții.

c) Anomalii genetice ale factorilor de coagulare

Literatura de specialitate conține multe observații clinice de sindrom hemoragic caracterizat prin deficit de proteine din grupa protrombinei (factorii II, VII, IX, X) asociat cu prezența precursorilor necarboxilați, dar cu nivel sanguin normal al vitaminei K. Studiul familiilor în care a fost descris acest sindrom a sugerat o transmitere genetică autosomală recesivă a acestei afecțiuni.Mecanismul molecular ce stă la baza acestui sindrom pare a fi o mutație responsabilă de inactivarea sistemului enzimatic carboxilază/epoxidază.

În alt context, Bertina și colaboratorii (1981) descriu un caz de hemofilie B caracterizat prin prezența în sînge a unui precursor necarboxilat al factorului IX identic cu precursorul ce apare în carența vitaminică din punctul de vedere al

faptului că nu poate fixa calciul ionizat, dar cu masă moleculară diferită. Este posibil ca o mutație la nivelul codonului non-sens să fie responsabilă de biosinteza unei molecule mai mari decît cea normală care o face nefuncțională prin imposibilitatea transformării resturilor de acid glutamic în acid γ-carboxiglutamic.

d) Hipovitaminoza K în insuficiența hepatică

Insuficiența hepatică este asociată cu o diminuare a concentrației sanguine a proteinelor sintetizate în hepatocite, inclusiv a factorilor de coagulare vitamină K-dependenți. Testele asupra coagulării (timpul Quick, dozarea biologică a protrombinei etc.) sînt modificate în aceeași manieră ca și în deficitul de vitamină K. Diferențierea isuficienței hepatice de carența vitaminică se face prin:

- refacerea testelor de hemostază după administrare parenterală de vitamină care corijează deficitul;
- dozarea factorului V care este normal în carența vitaminică și scăzut în insuficiența hepatică;
- dozarea protrombinei necarboxilate prin teste specifice care sînt pozitive în carență și respectiv negative în insuficiența hepatică.

II.4.8.3. Hipervitaminoza K

Pentru animale, vitaminele K_1 și K_2 nu au acțiune toxică nici în doze relativ mari. Pentru organismul uman însă, administrarea intravenoasă rapidă a vitaminei K1 este însoțită de reacții cutanate, dispnee, dureri toracice etc.

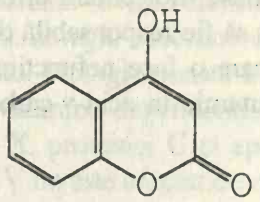
La nou-născuți, vitaminele K sintetice sînt responsabile de anemie hemolitică severă, hiperbilirubinemie etc. datorită competiției între bilirubină și vitamina K în procesul glucoconjugării hepatice. Aceste efecte sînt inexistente, sau foarte mult atenuate dacă se administrează vitaminele K naturale.

La pacienți cu activitate scăzută a glucozo-6-fosfat dehidrogenazei, glutation-reductazei eritrocitare, vitaminele K sintetice provoacă hiperhemoliză, fiind contraindicate.

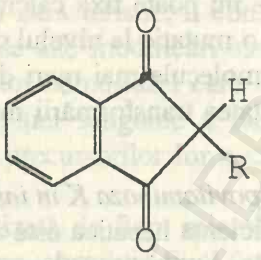
II.4.9. Antivitamine K

Primele substanțe descoperite ce provoacă simptomele avitaminozei K, fără a exista un deficit al acestei vitamine în organism, au fost dicumarolul și unii derivați ai acestuia.

Acțiunea acestor substanțe constă în scăderea concentrației sanguine și a activității biologice a factorilor de coagulare vitamino-dependenți și apariția precursorilor necarboxilați ai acelorași factori. Ulterior s-a demonstrat că toți antagoniștii vitaminei K derivă de la 4-hidroxicumarină sau indan-1,3-dionă, avînd analogii structurale cu vitamina K:



4-hidroxicumarina



indan-1,3-diona

În principal, antagoniștii vitaminei K acționează la nivelul țesutului hepatic, asupra factorilor vitamino-dependenți. De exemplu, warfarina (cumadina) inhibă procesul carboxilării la nivelul resturilor de acid glutamic. În doze mici ea inhibă procesul de epoxidare-reducere ce face ca vitamina K să rămînă în forma sa oxidată. În doze mai mari inhibă vitamina K-reductaza NADH(P)-dependentă.

În general, antagoniștii vitaminei K sînt administrați per os.Ei sînt absorbiți rapid și complet la nivel intestinal.După administrare de warfarină, maximul concentrației sale în sînge se observă după aproximativ 6 ore, forma circulantă fiind legată de proteine, în speță de albuminele serice. Timpul de înjumătățire este diferit de la un medicament la altul, fiind cuprins între doua ore în cazul etil-bis-cumacetalului (Tromexan) și 156 ore pentru fenprocuman (Marcoumar). Degradarea lor are loc în hepatocite, produșii de catabolism fiind eliminați prin urină sub formă de derivați hidroxilați solubili.

Răspunsul la aceste medicamente este diferit de la un individ la altul (factori genetici) precum și la același individ în funcție de starea sa fiziopatologică (hipersensibilitate, insuficiență hepatică, hipertiroidie etc.).

Numeroase medicamente pot modifica acest răspuns, fie multiplicînd acțiunea acestor antagoniști (fenilbutazonă, clofibrat, steroizi anabolizanți, glucocorticoizi) fie diminuînd-o (barbituricele, griseofulvina, rifampicina etc.).

Datorită acțiunii lor destul de puternice, antagoniștii vitaminei K, prezintă numeroase contraindicații de administrare, cele mai importante fiind interdicțiile de administrare în anomalii congenitale ale hemostazei, insuficiență hepatică, ciroză hepatică, leziuni ale tubului digestiv, leziuni renale, antecedente vasculare cerebrale, retinopatii, hipertensiune arterială malignă, în primele 12 săptămîni de sarcină și după a 37-a săptămînă, perioada de alăptare, precum și în unele contexte psihiatrice și socio-economice care necesită o supraveghere medicală riguroasă.

Vitamina K injectabilă este incompatibilă cu fenitoina și clorhidratul de promazină cu care formează precipitate.

II.5 VITAMINA F
(ACIZI GRAȘI ESENȚIALI)

II.5.1 Generalități

Sub denumirea de "vitamină F" sînt reuniți acizii grași nesaturați esențiali. Pentru prima dată, boala de carență în grăsimi la animale de experiență a fost descrisă în 1929 de către Burr. Ulterior s-a pus problema dacă acizii grași nesaturați sînt esențiali, iar în caz afirmativ, dacă aceștia joacă un rol vitaminic.

Lipsa acizilor grași nesaturați provoacă la om aceleași simptome ca cele observate la animalele de experiență, la copii simptomatologia fiind mai accentuată.

II.5.2 Structura chimică și proprietățile vitaminei F

Acizii grași esențiali grupați sub genericul de vitamină F sînt acizi grași cu diferite grade de nesaturare. În funcție de acest criteriu ei se clasifică astfel:

a) acizi grași mononesaturați;

b) acizi grași polinesaturați, care la rîndul lor pot fi:

* acizi grași cu două legături duble (de exemplu acidul linolic);
* acizi grași cu trei duble legături (de exemplu acidul linolenic, acidul γ-linolenic și acidul homolinolenic);
* acizi grași cu patru legături duble, (de exemplu acidul arahidonic).

Acidul linolic:

$$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_7-COO$$

Este cel mai răspîndit acid dietenic. Sub formă pură este un lichid uleios, incolor, solubil în solvenți organici și soluții de baze, insolubil în apă. Cele două duble legături prezintă configurație cis. Prin oxidare în mediu de permanganat de potasiu formează acidul tetrahidroxi-stearic sau acidul sativinic.

Structura sa (acid 9,12-dicis-octadecadienoic) a fost confirmată prin sinteză chimică care se realizează prin condensarea acetilurii monosodice cu

1,6-dibromhexanul. Produsul obținut este supus apoi unei serii de reacții (bromurare,oxidare,reducere) formînd în final acidul linolic, identic cu cel natural.

Acidul linolenic:

$$CH_3-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_7-COOH$$

Este un lichid uleios, incolor, insolubil în apă, solubil în solvenți organici și etanol. La nivelul celor trei duble legături, configurația este de tip cis. Prin reducere formează acid stearic, iar la oxidare energică dă aldehidă propionică, aldehidă malonică, acid malonic și acid azelaic.

Acidul arahidonic:

$$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_3-COOH$$

Este o substanță cristalină, insolubilă în apă, solubilă în solvenți organici și în soluții alcaline. Prin oxidare formează acizii acetic, caproic, succinic, malonic și glutaric. Acidul arahidonic natural se izolează din glandele suprarenale ale bovinelor. Există și preparate sintetice, obținute prin procese de sinteză chimică.

În grupa acizilor grași nesaturați cu activitate vitaminică F mai intră și acidul γ-linolenic precum și acidul homolinolenic:

$$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_4-COOH$$

acidul γ-linolenic

$$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_6-COOH$$

acidul homolinolenic

II.5.3 Stare naturală

Acizii grași componenți ai vitaminei F se găsesc în natură atît în plante (acidul linolic și linolenic) cît și în țesuturile animale (acizii linolic, linolenic și arahidonic). Dintre alimentele de origine vegetală, cele mai bogate în vitamina F sînt uleiul de porumb și floarea soarelui, nucile, pîinea neagră și intermediară, arahidele etc. Alimentele de origine animală sînt mai sărace în vitamină F, cele mai bune surse fiind untul, osînza, măduva, peștele, laptele de vacă etc.

Prezența legăturilor duble în acizii grași esențiali face ca alimentele care conțin acești acizi să sufere unele transformări specifice în prezența oxigenului din aer - așa numitul proces de rîncezire.

II.5.4 Metabolismul vitaminei F

Acizii grași nesaturați sintetizați doar de către plante, ajung în organismul animal și uman odată cu hrana.

În țesuturile vegetale, biosinteza *de novo* a acizilor grași cu catenă lungă are loc în citosol, procesul fiind catalizat de complexul enzimatic numit acid gras-sintetază ce conține un număr de 7 enzime. Precursorul general al acestei căi anabolice este reprezentat de acetil-CoA, iar fazele de reducere au loc în prezența NADPH.

Cercetări *in vivo* și *in vitro* au demonstrat că legăturile duble se introduc numai dinspre gruparea carboxilică, într-o relație 1,4 a legăturii duble celei mai apropiate.

În țesuturile animale, acidul arahidonic se sintetizează într-un proces ce utilizează drept precursor acidul linolic exogen. Acizii linolic și linolenic nu sînt sintetizați în organismele mamiferelor ci doar în plante prin utilizarea în calitate de precursori a acidului oleic.

La nivel intestinal, absorbția vitaminei F se face prin același mecanism și urmează aceeași cale cu a grăsimilor. Procesul este facilitat de prezența bilei care emulsionează grăsimile, sub această formă ele fiind mai ușor scindate hidrolitic de către lipaza pancreatică. Vitamina F este, de asemenea, emulsionată de către bilă, fiind transformată în complecși polienici hidrosolubili care se absorb ușor. După absorbție, prin circulația portă, acizii grași nesaturați ajung în ficat. La acest nivel are loc conversia parțială a acidului linolic în acid arahidonic. Tot aici are loc și biosinteza de fosfolipide, în special lecitine, care reprezintă forma circulantă a acestora în organism.

În sînge, după acțiunea hidrolitică a lecitinazei se eliberează acizii grași care esterifică imediat colesterolul. Sub formă de colesteride, acizii grași esențiali sînt transportați la nivelul organelor și țesuturilor.

Degradarea componentelor vitaminei F are loc, în principal, pe calea β-oxidării, iar o anumită cantitate este utilizată în formarea prostaglandinelor. Eliminarea din organism se face prin fecale, iar la femeile care alăptează, în principal prin glandele mamare, laptele uman conținînd cantități mult mai mari de acizi grași nesaturați esențiali decît laptele mamiferelor.

II.5.5. Rolul biologic al vitaminei F

Datorită reactivității crescute, vitamina F intervine în diferite procese de oxidoreducere la nivel celular. Mai participă la structura membranelor mitocondriale și a enzimelor respiratorii. Experimente pe animale de labo-

rator au demonstrat că vitamina F joacă un rol important în creșterea organismelor tinere, activitatea acizilor grași esențiali fiind diferită. De exemplu, acidul arahidonic este de 6 ori mai activ decît acidul linolic, în timp ce activitatea acidului linolenic reprezintă doar jumătate din cea a acidului arahidonic.

În compoziția lipidelor din organismul animal, acizii grași nesaturați esențiali prezintă o pondere bine determinată, imprimîndu-le acestora o structură specifică, care diferă de la o specie la alta, sau de la un țesut la altul. În 1960 s-a demonstrat că acidul arahidonic, sub acțiunea omogenatelor de vezicule seminale de berbec, poate fi transformat în prostaglandinele PGE_2. Ulterior s-a clarificat mecanismul conversiei vitaminei F în prostaglandine, existînd două căi metabolice distincte: calea endoperoxizilor și calea metabolică de tip lipoxigenazic. Transformările ce au loc sînt multiple, fiind catalizate de enzime specifice.

Cînd se utilizează în calitate de precursor acidul arahidonic de exemplu, acesta se transformă într-o primă fază în doi endoperoxizi instabili (PGG_2 și PGH_2) care trec rapid în prostaglandinele PGE_2, PGF_2 și PGD_2. Intermediarii endoperoxidici determină agregarea ireversibilă a trombocitelor și contracția mușchilor netezi ai sistemelor respirator și vascular.

În endoteliul vascular, prostaglandinele PGG_2 și PGH_2 sînt transformate enzimatic, sub acțiunea unei oxiciclaze specifice în PGX și PGI_2 sau prostaciclină care este instabilă și trece în 6-oxo-$PGF_1\alpha$.

În calea metabolică de tip lipoxigenazic, acidul arahidonic trece în acid 12-L-hidroxi-eicosa-5,8,10,14-tatraenoic (HETE). Această cale metabolică nu este inhibată de aspirină sau de către indometacin cum se întîmplă în calea endoperoxidazică.

Pînă în prezent au fost izolate și caracterizate 16 prostaglandine clasificate în șase grupe (E, A, B, F, C și D) în funcție de gruparea funcțională din nucleul ciclopentanic al moleculei. La acestea se mai adaugă un număr de prostaglandine obținute prin sintexă chimică.

Prostaglandinele îndeplinesc mai multe roluri în organism, fapt ce lărgește considerabil aria funcțiilor biologice ale vitaminei F, în calitate de precursor al prostaglandinelor.

Principalele funcții ale prostaglandinelor în organismul animal și uman sînt următoarele:

a). Acțiunea prostaglandinelor supra sistemului nervos central

În funcționarea sistemului nervos central, prostaglandinele formează un flux aproape identic cu cel al catecolaminelor și indolalchilaminelor din structurile simpatice. Se pare că ele îndeplinesc rol de mediatori chimici la nivelul sinapselor din sistemul nervos central, fiind sintetizate sub acțiunea unor stimuli nervoși și apoi, după ce și-au îndeplinit rolul, se inactivează fie

la nivel cerebral, fie la nivel medular sau chiar periferic. S-a stabilit experimental că prostaglandinele seriei E au efecte sedative, aceleași ca în cazul prostaglandinelor F, dar mult mai puternice. PGE_1 mai acționează asupra unui grup de neuroni din trunchiul cerebral, diminuînd excitația de la centrii respiratori, la cei cardioinhibitori și vasomotori.

S-a demonstrat că prostaglandinele au efecte și asupra inervației vegetative. Astfel PGE_1 și PGE_2 sînt eliberate de diferite țesuturi ca răspuns la stimularea lor adrenergică, inhibînd, în același timp, răspunsurile a numeroase țesuturi.

b). Acțiunea prostaglandinelor asupra sistemului bronhopulmonar

Vitaminele F contribuie la formarea prostaglandinelor în celulele zonelor medulare a rinichilor, în special PGA_2, PGE_2 și PGF_2, care prezintă acțiune antihipertensivă și diuretică. Existența unei interdependențe între prostaglandine și renină prin intermediul endoperoxizilor, face să existe o relație vitamină F-renină în sensul stimulării biosintezei reninei în celulele cortexului renal de către PGA_2 și PGE_2 și respectiv inhibiția acestui proces de către $PGF_2\alpha$.

c). Acțiunea prostaglandinelor asupra sistemului gastro-intestinal constă în provocarea funcției motorii gastrointestinale prin stimularea musculaturii netede.

d). Interrelația prostaglandinelor cu hormonii.

Se consideră că prostaglandinele au capacitatea de a potența hormonii hipotalamici și de a acționa direct la nivelul hipofizei prin intermediul unor receptori specifici prostaglandinici. Aceste funcții nu sînt însă pe deplin elucidate, mulți autori punîndu-le sub semnul întrebării.

e). Efectele prostaglandinelor asupra hematopoiezei

Metabolizarea acidului arahidonic pe calea ciclooxigenazei are loc în toate țesuturile în timp ce calea lipoxigenazică se realizează doar în plachete, neutrofile, limfocite, macrofage, celule testiculare etc.

Prostaglandinele de tip E acționează asupra sistemului adenilat-ciclazei, iar cele de tip F stimulează guanilat-ciclaza. În general, prostaglandinele influențează răspunsul imun la diferite niveluri prin următoarele mecanisme:

- stimularea diferențierii limfocitare;
- inhibiția mitogenezei limfocitare, a citotoxicității și producției de anticorpi;
- efect chemotactic;
- acțiunea ca mediatori ai inflamației prin inducerea vasodilatației și creșterea permeabilității vasculare.

f). Rolul prostaglandinelor în reglarea lipolizei

Prin utilizarea de țesuturi adipoase s-a pus în evidență faptul că PGE_2 și PGF_2 participă la mecanismul de reglare a lipolizei prin care își exercită efectele metabolice unii hormoni glandulari. La baza acestui mecanism stă capacitatea prostaglandinelor de a stimula activitatea adenilatciclazei din membrana adipocitară, provocînd în felul acesta creșterea concentrației celulare de cAMP, a activității lipazei și a fosforilazei A din țesutul adipos. Cele două enzime acționează printr-o inhibiție competitivă cu hormonii lipolitici, printr-un mecanism de tip feed-back la nivelul sistemului adenilatciclază-cAMP-fosfodiesterază, localizat în membrana adipocitară.

g). Rolul prostaglandinelor `n metabolismul glucidic și proteic

Experimentele efectuate pe animale de laborator au arătat că injectarea prostaglandinelor are efect hiperglicemiant, dar observațiile clinice au evidențiat faptul că la om acestea nu influențează insulinemia și deci nici glicemia. În schimb, metabolismul proteic este influențat de prostaglandine în sensul activării de către acestea a procesului de biosinteză a proteinelor și acizilor nucleici.

Datorită marii lor diversități funcționale, prostaglandinele se utilizează în terapia unor afecțiuni cum ar fi aritmiile cardiace, ateroscleroza, astmul bronșic, ulcerul gastric, glaucomul, disfuncțiile hepatobiliare, sindromul nefrotic, trombozele intravasculare, bolile autoimune, procesele inflamatorii, diabetul, obezitatea, unele boli neuropsihice, tulburări de reproducere, tumori maligne etc.

II.5.6. Unități de activitate

Drept etalon în evaluarea activității vitaminei F se consideră acidul linolic a cărui activitate s-a fixat la 100 U.I./g. Raportat la acesta, acidul linolenic are o activitate de 9 U.I./g, iar acidul arahidonic 130 U.I./g.

Necesitățile zilnice de vitamină F depind de vîrstă , starea fiziologică, compoziția alimentelor și alți factori. În general, se consideră că o dezvoltare normală a organismului din punctul de vedere al funcțiilor acestei vitamine are loc atunci cînd acizii grași esențiali reprezintă 1 % din necesarul de calorii. În același timp trebuie să existe o proporție determinată între vitamina F și vitamina E. Se consideră normal raportul de 1 g acid linolic la 0,5 mg α-tocoferol, raport satisfăcut la majoritatea uleiurilor vegetale.

II.5.7. Tulburări de aport vitaminic

În experiențe pe animale de laborator hrănite cu dietă deficitară în vitamina F, s-a observat că principalele simptome carențiale sînt: încetarea creșterii puilor, necroze, leziuni renale, perturbarea funcției ovariene la femele și degenerarea testiculelor la masculi, modificarea hemoleucogramei etc. Simptomele hipovitaminozei F sînt la om asemănătoare cu cele observate în experiențele pe animale.

Hipovitaminoza F se instalează la om în cazul lipsei din hrană a acizilor grași esențiali, în tulburările de absorbție intestinală, precum și în unele afecțiuni hepatice. Dacă ea intervine la femei în perioada de sarcină, nou-născuții prezintă o marcantă încetinire a creșterii, iar în hipovitaminoza avansată a mamelor, nou-născuții prezintă o supraviețuire limitată.

Dacă hipovitaminoza survine la sugari sau la copiii mici, aceștia prezintă eczeme, căderea părului, încetinirea creșterii, anemie macrocitară, anemie hemolitică.

Dacă hipovitaminoza survine la adulți, ea determină modificarea tabloului sanguin, tulburări trofice ale pielii, disfuncții hepatice, ovariene și testiculare, leziuni renale, subțierea și căderea părului etc. Din punct de vedere biochimic se observă o diminuare a intensității procesului de fosforilare oxidativă și o scădere a activității unor oxidoreductaze ca glutamatdehidrogenaza, succinatdehidrogenaza, citocromoxidaza etc. Influența carenței de vitamină F asupra aparatului sexual este destul de puternică. Ea poate determina anovulație sau ovulație neregulată, creșterea perioadei de gestație, lactație deficitară etc., respectiv atrofie testiculară cu azoospermie datorită degenerării celulelor germinative.

Carența vitaminei F mai produce tulburări gastro-intestinale cu hepatosteatoză, degradarea cartilajelor și fragilitatea capilarelor.

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

III. VITAMINELE HIDROSOLUBILE

Dacă mecanismele moleculare ale vitaminelor liposolubile rămîn în mare parte incomplet elucidate, pentru vitaminele hidrosolubile aceste aspecte sînt mult mai clare. Cu excepția acidului ascorbic, a cărui mecanism de acțiune nu este tipic coenzimatic, celelalte vitamine hidrosolubile intră în structura multor enzime sub formă de coenzime. În afară de rolul coenzimatic, jucat de obicei de unii derivați ai vitaminelor hidrosolubile, acestea mai îndeplinesc în organismul animal și uman și alte funcții.

Studiul vitaminelor hidrosolubile a contribuit la clarificarea multor etape ale metabolismului substanțelor, dat fiind faptul că actul catalitic propriu-zis este asigurat de coenzime ce intră de regulă, în constituția situsului activ, apoenzima avînd rol preponderent în manifestarea specificității de acțiune.

III.1. VITAMINA B_1 (TIAMINA, ANEURINA, VITAMINA ANTIBERIBERICĂ, VITAMINA ANTINEVRITICĂ)

III.1.1. Generalități

Tiamina reprezintă una din primele vitamine studiate sub aspectul importanței sale în nutriție și a structurii chimice. Simptomele avitaminozei B_1 au fost cunoscute încă în ultimele decenii ale secolului trecut cînd s-a observat că folosirea orezului decorticat în hrana păsărilor și animalelor determină apariția polinevritei, cu simptome asemănătoare prezentate de pacienții cu beri-beri. Acestea dispăreau după adăugarea tărîțelor în hrană. S-a presupus atunci că în procesul de măcinare ar avea loc înlăturarea mecanică a unui factor protector necesar neutralizării anumitor toxine din bobul de orez. La scurt timp însă sindromul beri-beri a fost catalogat ca fiind o "boală carențială".

În perioada 1896-1897, Eijkman demonstrează că factorul antiberiberi se află în coaja bobului de orez, iar zece ani mai tîrziu Funk obține pentru

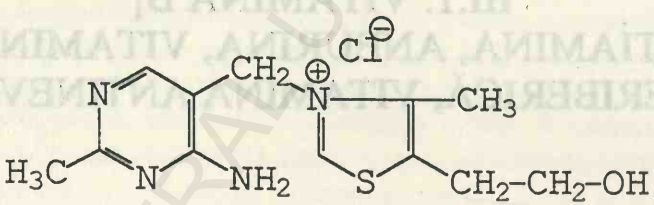
prima dată concentrate ale acestui factor din tărîțe. Abia în 1926 s-au obținut preparate cristaline de tiamină, iar în 1935-1936 i s-a stabilit structura chimică. Acest principiu hidrosolubil, obținut sub formă de clorhidrat, a primit denumirea de vitamină B.

În urma cercetărilor efectuate de Scidell (SUA) și Mandouin (Franța), s-a stabilit că preparatele obținute din tărîțele de cereale conțin o fracție termolabilă cu activitate antinevritică, care a primit numele de vitamina B_1 și o fracție termostabilă conținînd riboflavină (vitamina B_2).

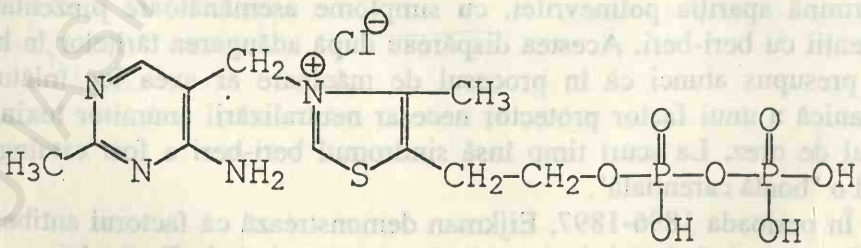
Ulterior s-a demonstrat că necesitățile organismului uman în aneurină pot fi satisfăcute doar printr-un aport cotidian de vitamină exogenă datorită faptului că tiamina nu are capacitatea de a se stoca în organism și nici nu este sintetizată de către flora microbiană din tractul intestinal. Rolul tiaminei în metabolismul glucidic și în utilizarea energetică a glucozei explică de ce hipo- și avitaminoza B_1 are repercusiuni rapide și severe asupra țesutului nervos al cărui metabolism este preponderent gluco-dependent.

III.1.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei B 1

Din punct de vedere structural, tiamina este 3-(4'-amino-2'-metil-5'-pirimidinil-metil)-5-(β-hidroxietil)-4-metil-triazol.



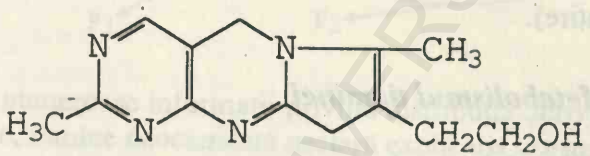
Molecula tiaminei este formată dintr-un heterociclu pirimidinic și unul tiazolic, legate între ele printr-o punte metilenică. Heterociclul tiazolic conține un radical lateral metil și un radical hidroxietil a cărui grupare alcoolică poate fi esterificată cu pirofosfat cînd se formează tiaminpirofosfatul (TPP) cu rol coenzimatic:



Acesta mai este cunoscut și sub numele de cocarboxilază sau difosfotiamină.

Clorhidratul de tiamină este o substanță cristalină, albă, cu miros caracteristic, ușor solubilă în apă, greu solubilă în alcool și insolubilă în solvenți organici. În mediu slab acid, tiamina este relativ stabilă față de acțiunea oxidanților și temperatură, dar foarte instabilă în mediu neutru și alcalin.

Termostabilitatea tiaminei crește ușor în prezența vitaminei C, cisteinei, hidrochinonei și tioureei. Oxidarea tiaminei cu fericianură de potasiu în mediu alcalin are loc cu formarea tiocromului, substanță ce prezintă o fluorescență albastră, caracteristică, această reacție stînd la baza unor metode fizico-chimice de dozare a vitaminei B_1 în produse naturale și preparate farmaceutice.



tiocrom

În soluție de acid clorhidric 0,1 N, tiamina prezintă un optim de absorbție la 247 nm, această proprietate stînd la baza metodelor colorimetrice de dozare.

Prin tratare cu nitriți și sulfiți, molecula tiaminei se distruge prin separarea celor doi heterocicli, iar cu acidul picric, acidul fosfotungstic și acidul tanic formează compuși insolubili. Păstrarea tiaminei un timp mai îndelungat, în soluție alcalină, în contact cu aerul determină oxidarea vitaminei cu formare de tio-diazolonă sau tio-tiamină care prezintă aceeași activitate biologică ca și tiamina.

Prin oxidare puternică la căldură sau sub acțiunea tiaminazei, enzimă existentă în cantități relativ mari în unele alimente, are loc de asemenea ruperea punții metilenice ce unește cei doi heterocicli, această transformare stînd la baza unuia din mecanismele degradării termice a aneurinei.

III.1.3. Stare naturală

Sursa principală de vitamină B_1 pentru organismul uman o constituie alimentele de origine vegetală și mai puțin cele de origine animală. Cantități mari de tiamină se găsesc în drojdia de bere (între 1-7 mg/100 g), apoi în cuticula boabelor de cereale (orez, grîu etc.), soia, pîinea intermediară și

neagră etc. Deși conțin cantități mici de tiamină, alimentele de origine animală reprezintă totuși o importantă sursă de vitamină B_1 pentru om. Din această categorie de alimente, cea mai bună sursă o constituie carnea de porc, ficatul, rinichii, ouăle, laptele, peștele etc. În acest din urmă caz, trebuie menționat faptul că în carnea unor specii de pești există tiaminaza capabilă să distrugă vitamina B_1.

Fructele și legumele verzi sînt, în general, sărace în tiamină, cu excepția unor leguminoase. Distrugerea cojii acestora le fac și mai sărace prin antrenarea tiaminei cu apă în timpul spălării.

Tiamina mai poate fi sintetizată și de către unele bacterii intestinale la nivelul *caecum*-ului, dar aceasta este mai puțin importantă pentru necesitățile organismului, dat fiind faptul că biosinteza are loc în aval de zona în care se realizează absorbția intestinală a vitaminei (zona proximală a intestinului subțire).

III.1.4. Metabolismul tiaminei

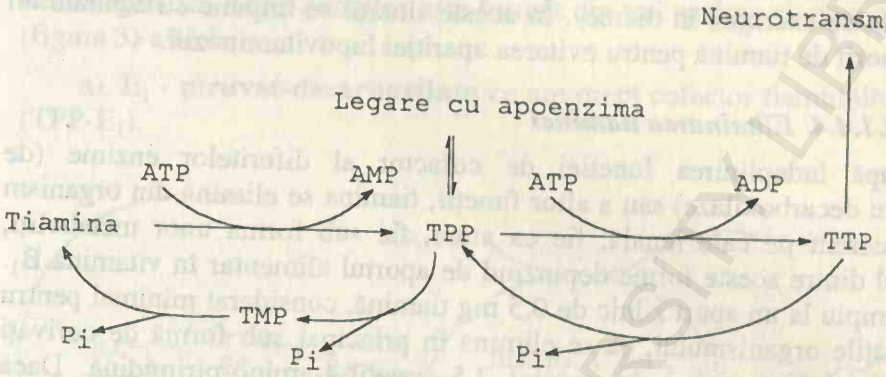
III.1.4.1. Absorbția tiaminei

Absorbția intestinală a vitaminei B_1 este destul de limitată și se realizează cu precădere în duoden și zona proximală a intestinului subțire, printr-un mecanism de transport activ, contra gradientului de concentrație. Unii autori nu neglijează însă și existența unui transport pasiv, difuzional, ce are loc în cazul saturării transportorilor specifici în urma ingerării unor cantități mai mari de tiamină. Viteza de absorbție maximă s-a evaluat a fi in jur de 8-15 mg/24 h. Alimentele favorizează absorbția probabil datorită faptului că tiamina este puțin stabilă în mediul duodenal alcalin. Pe de altă parte ea este mult diminuată la persoanele în vîrstă, în caz de vărsături, diaree, colite ulceroase, boli hepatice, aclorhidrie și boli neoplazice. Încă din timpul transportului, tiamina este fosforilată în mucoasa intestinală, sub această formă trece în sînge, iar aici are loc procesul invers sub acțiunea tiaminfosfokinazei. Tiamina liberă ajunge pe cale sanguină în ficat.

III.1.4.2. Fosforilarea tiaminei

Indiferent de forma sub care a fost ingerată, tiamina suferă un proces de fosforilare sub acțiunea pirofosfatkinazei cu formare de tiaminpirofosfat (TPP) sau cocarboxilază. Acest proces se realizează în mare parte în ficat, deși enzima care catalizează reacția de fosforilare se întîlnește aproape în toate țesuturile. Sub acțiunea tiaminpirofosfat:ATP-fosforil-transferazei, cocarboxilaza poate fi transformată în tiamintrifosfat (TTP) cu ajutorul energiei și radicalului ortofosfat din ATP. Fiecare derivat fosforilat al

tiaminei poate fi, la rîndul lui, defosforilat sub acțiunea unor fosfataze specifice. Dacă TPP-ul joacă, în principal, rol enzimatic, TTP-ul îndeplinește mai ales funcția de neurotransmițător:



Deși există numeroase informații privind distribuția derivaților tiaminei în diferite organe, rămîne deocamdată neclară explicația acestei distribuții în funcție de tipul țesutului sau chiar tipul celulei.

III.1.4.3 Difuzia tiaminei

Tiamina circulantă este reprezentată în sînge de forma fosforilată (aproximativ 3/4 din tiamina totală) sau liberă (1/4). În elementele figurate ale sîngelui (globulele albe, globulele roșii, plachete) tiamina există sub formă de TPP. Concentrația sanguină a tiaminei variază considerabil la același organism cu timpul și s-ar părea că există o corelație directă între aceasta și viteza de eliminare pe cale renală. Valorile normale ale concentrației tiaminei în diferite lichide biologice se consideră a fi următoarele: 20-75 μg/l în sîngele total, 18-62 mg/l în serul sanguin, 3-12 μg/l în lichidul cerebrospinal, aproximativ 80 μg/l în eritrocite și în jur de 675 μ în leucocite. În timp ce în sînge tiamina poate fi sub formă liberă, leucocitele și eritrocitele sînt bogate în difosfotiamină.

Tiamina difuzează în toate țesuturile. Ea se găsește în cantități mai mari sub formă de tiaminpirofosfat în țesutul hepatic, creier, rinichi și inimă. Miocardul este unul din organele cele mai bogate în tiamină (2-3 μg/g), în timp ce musculatura striată este mult mai săracă (aproximativ 0,5 μg/g). Se mai semnalează, de asemenea, prezența în diferitele țesuturi a tiaminmonofosfatului și tiamintrifosfatului.

În ansamblu, organismul uman conține aproximativ 25 mg de tiamină, dar aceasta nu este sub formă stocată, de rezervă. Din această cauză orice exces este rapid eliminat și orice carență își manifestă relativ repede efectele. În cazul insuficienței alimentare de tiamină este afectată mai întîi

musculatura striată, apoi ficatul, sistemul nervos și inima. Rezervele tisulare sînt neglijabile. Acesta este motivul pentru care, necesarul zilnic de tiamină se amplifică mult în consumul regulat de alcool sau în malabsorbție (cum se întîlnește de exemplu în diaree). În aceste situații se impune cu acuitate un aport sporit de tiamină pentru evitarea apariției hipovitaminozei.

III.1.4.4. Eliminarea tiaminei

După îndeplinirea funcției de cofactor al diferitelor enzime (de exemplu decarboxilaze) sau a altor funcții, tiamina se elimină din organism preponderent pe cale renală, fie ca atare, fie sub forma unor metaboliți, raportul dintre aceste forme depinzînd de aportul alimentar în vitamină B_1. De exemplu la un aport zilnic de 0,5 mg tiamină, considerat minimal pentru necesitățile organismului, ea se elimină în principal sub formă de derivați pirimidinici și tiazolici, în special 2,5-dimetil-4-amino-pirimidină. Dacă aportul alimentar al vitaminei B_1 crește, începe eliminarea pe cale renală a tiaminei nemodificate, fapt ce denotă o capacitate scăzută a țesuturilor de a metaboliza această vitamină. Eliminarea pe cale urinară a tiaminei este redusă la diabetici, în caz de infecții, la persoanele în vîrstă, în efort fizic intens și la alcoolicii cronici.

Pe cale fecală se elimină tiamina neabsorbită la nivel intestinal și cea sintetizată de către flora microbiană. Cantități mici de tiamină mai sînt eliminate prin transpirație.

III.1.5. Rolul biologic al tiaminei

Principala funcție a vitaminei B_1 o constituie cea de coenzimă, sub formă de tiaminpirofosfat, pentru enzimele participante la decarboxilarea oxidativă a piruvatului, α-cetoglutaratului și a α-cetoacizilor rezultați în urma transaminării aminoacizilor cu catenă ramificată. TPP este, de asemenea, coenzimă pentru transcetolază, enzimă cheie a ciclului pentozofosfaților sau a căii fosfogluconatului. Sub forma sa trifosforilată, tiamina joacă rol de neurotransmițător.

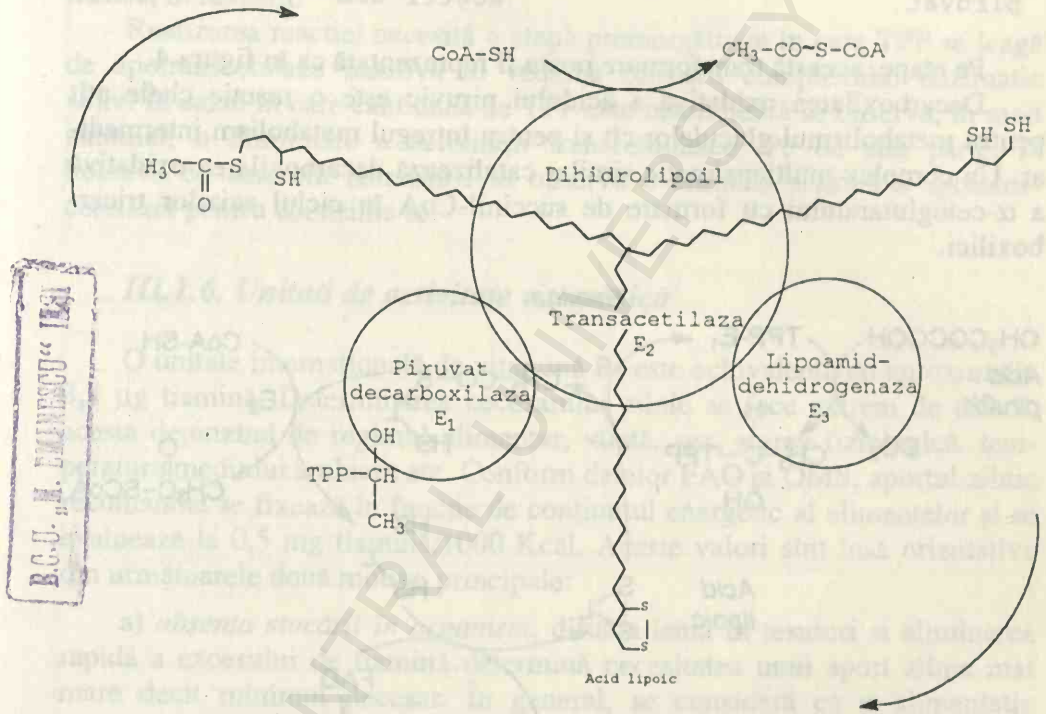
Spre deosebire de biotină, derivații tiaminei nu se leagă covalent de apoenzimele lor, deși sînt strîns atașate de acestea. Faptul că TPP poate fi disociat de diferite apoenzime, face posibilă o competiție între diferite enzime pentru TPP, precum și o eventuală modificare a activității catalitice odată cu creșterea concentrației TPP sau a precursorilor săi.

III.1.5.1 Rolul vitaminei B_1 în decarboxilarea α-cetoacizilor

Decarboxilarea oxidativă a α-cetoacizilor are loc sub acțiunea unor

complecși multienzimatici în structura cărora intră mai mulți cofactori. În cazul decarboxilării acidului piruvic cu formare de acetil-CoA, reacția are loc în etape sub acțiunea complexului multienzimatic numit piruvat-dehidrogenază. Acest complex este format din trei enzime și cinci coenzime (figura 3) astfel:

a). E_1 - **piruvat-decarboxilaza** ce are drept cofactor tiaminpirofosfatul (TPP-E_1).



B.C.U. „N. Milescu" Iași

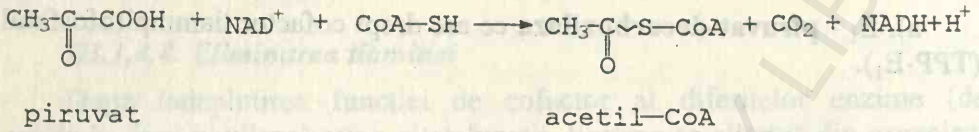
Figura 3. *Schema complexului piruvat-dehidrogenazei mitocondriale*

Ea catalizează reacția de decarboxilare propriu-zisă a piruvatului cu eliberare de CO_2 și formare de aldehidă acetică activată (acetaldehidă-TPP);

b) E_2-**dihidrolipoat-transacetilaza** ce catalizează transferul acetaldehidei de la TPP la acidul lipoic. În urma acestei reacții se regenerează piruvat-decarboxilaza (TPP-E_1) și se formează acidul acetildihidrolipoic. Imediat, sub acțiunea aceleeași enzime (E_2) restul acetil este transferat la coenzima A cu formare de acetil-CoA, produsul final al transformării;

c) **E_3-lipoamid-dehidrogenaza** ce catalizează recția de oxidare a acidului lipoic, în prezența FAD. Acesta la rîndul lui se reoxidează în prezența NAD^+.

Transformările ce au loc pot fi reprezentate prin reacția globală:



Pe etape, această transformare poate fi reprezentată ca în figura 4.

Decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic este o reacție cheie atît pentru metabolismul glucidelor cît și pentru întregul metabolism intermediar. Un complex multienzimatic similar catalizează decarboxilarea oxidativă a α-cetoglutaratului cu formare de succinil-CoA în ciclul acizilor tricarboxilici.

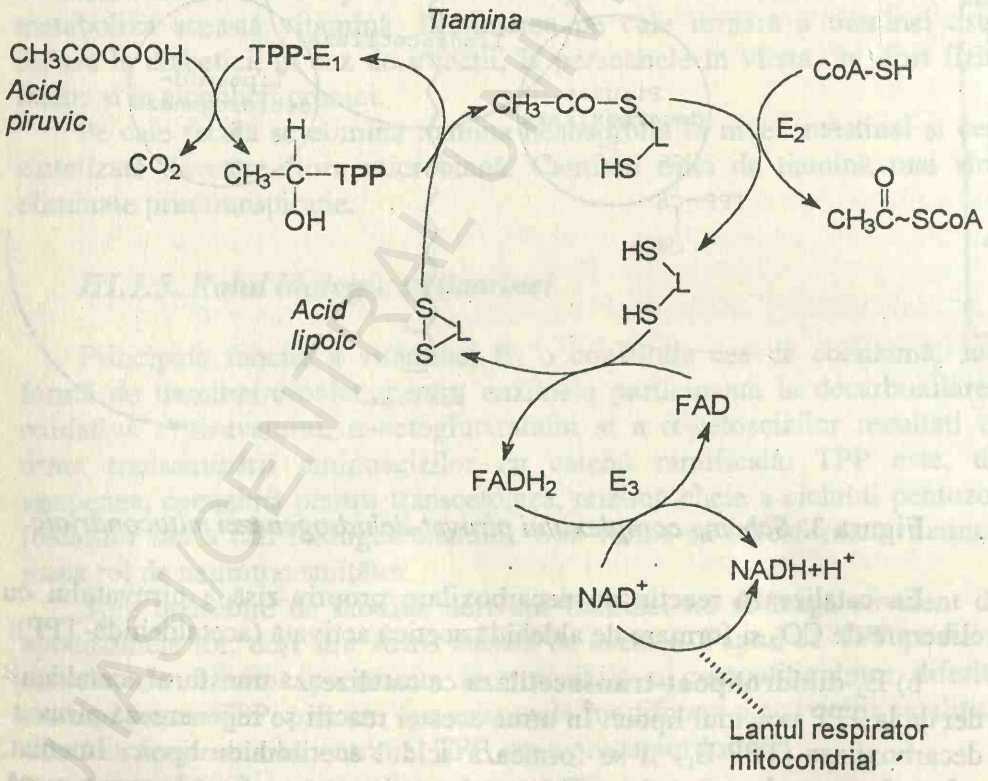


Figura 4. *Reprezentarea schematică a decarboxilării oxidative a acidului piruvic*

Tiaminpirofosfatul este totodată cofactorul decarboxilazelor α-cetoacizilor rezultați prin transaminarea leucinei, izoleucinei și valinei.

III 1.5.2. Rolul vitaminei B_1 în reacțiile de transacetilare

Sub formă de tiaminpirofosfat, vitamina B_1 mai participă și la alte etape ale catabolismului glucidic, jucînd rol de coenzimă pentru transcetolază. Această enzimă localizată în citosol se întîlnește în ficat, inimă, rinichi, intestin, creier etc. Activitatea transcetolazică se mai întîlnește, de asemenea, în hematii.

Realizarea reacției necesită o etapă premergătoare în care TPP se leagă de apotranscetolaza inactivă în vederea formării complexului enzimatic activ. În cazul în care cantitatea de TPP este insuficientă se observă, în mod automat, o diminuare a activității transcetolazice. Pe de altă parte, la bolnavii cu sindrom Korsakoff se observă o afinitate scăzută a apotranscetolazei pentru coenzima sa.

III.1.6. Unitati de activitate vitaminică

O unitate internațională de vitamină B_1 este echivalentă cu aproximativ 3,8 μg tiamină. Determinarea necesarului zilnic se face extrem de dificil, acesta depinzînd de regimul alimentar, vîrstă, sex, starea fiziologică, temperatura mediului ambiant etc. Conform datelor FAO și OMS, aportul zilnic recomandat se fixează în funcție de conținutul energetic al alimentelor și se evaluează la 0,5 mg tiamină/1000 Kcal. Aceste valori sînt însă orientative din următoarele două motive principale:

a) *absența stocării în organism*, difuzia lentă în țesuturi și eliminarea rapidă a excesului de tiamină determină necesitatea unui aport zilnic mai mare decît minimul necesar. În general, se consideră că o alimentație diversificată și echilibrată asigură aportul cotidian recomandat de comisia mixtă FAO-OMS;

b) *multitudinea factorilor* de care depinde necesarul zilnic, determină de asemenea un aport diferit (tabelul III).

Tiamina nu provoacă simptomul de hipervitaminoză, orice exces administrat *per os* sau *parenteral* fiind eliminat pe cale renală. Deși nu s-au semnalat efecte toxice ale vitaminei B_1, chiar și în doze mari, pot să apară fenomene de sensibilitate individuală imprevizibile după administrarea parenterală.

Un caz aparte îl costituie subiecții alimentați exclusiv pe cale parenterală cînd aportul caloric este format exclusiv din dextroză.

Tabel III

Necesarul zilnic de vitamină B_1 în funcție de aportul caloric (după Comitetul Mixt de Experți FAO-OMS, 1974)

Vîrsta (ani)	Calorii/zi	Tiamină (mg/zi)
Nou-născuți		
0-3 luni	120/kg	0,2
3-6 luni	100/kg	0,4
6 luni-1 an	1000/kg	0,5
Copii		
1 -2	1150	0,6
2 -3	1300	0,6
3 -4	1450	0,7
4 -6	1700	0,8
6 -8	2100	1,0
8-10	2500	1,1
Adolescenți		
băieți 10-15	3000	1,5
fete 10-15	2600	1,2
Tineri		
băieți 16-19	3600	1,5
fete 16-19	2400	1,2
Adulți		
bărbați	3200	1,3
femei	2300	1,0
Femei însărcinate	2500	1,3
Femei ce alăptează	2500	1,7

III.1.7. Tulburări de aport vitaminic

Rolul de coenzimă pe care vitamina B_1 îl joacă în multe reacții enzimatice, determină principalele consecințe clinice și biologice ale carenței acestei vitamine. Sursa energetică principală pentru sistemul nervos central o constituie glucoza. La nou-născuți metabolismul cerebral reprezintă aproximativ 65 % din metabolismul bazal, acest procent diminuînd cu vîrsta pînă la 23 % în cazul adultului. Dat fiind faptul că tiamina este implicată

preponderent în metabolismul glucidic aerob și anaerob, sistemul nervos este cel mai vulnerabil la deficitul de tiamină.

Pe de altă parte, numeroase experimente și observații clinice par să ateste faptul că disfuncțiile neurologice observate în hipovitaminoza B_1 nu sînt determinate în mod direct numai de modificările activităților catalitice ale enzimelor TPP-dependente. Este posibilă existența unui rol special și direct al tiaminei în funcționarea membranelor excitabile. Astfel, Tillement demonstrează în 1976 rolul de mediator al tiaminei nefosforilate la nivelul sistemului nervos parasimpatic.

Ulterior Gibson și Plaitakis (1982) arată că tiamina este implicată în biosinteza acetilcolinei și în fenomenul de transmitere neurală. Cu ajutorul tiaminei marcate s-a demonstrat că TPP este implicat în generarea potențialului transmembranar.

În condiții fiziologic normale, aproximativ 70 % din energia necesară mușchiului cardiac provine din căile de degradare catabolică a acizilor grași și 30 % provine din degradarea glucozei. Dar, după cîteva secunde de efort fizic intens, 80 % din energia consumată de miocard provine din glucoza circulantă și glicogen. Rezervele de glicogen cardiac fiind relativ mici, după cîteva minute de efort raportul între oxidarea glucozei și a acizilor grași revine la valoarea de repaus. În aceste situații, piruvatul format în glicoliză este redus la acid lactic care trece în sînge și doar parțial este decarboxilat la acetil-CoA. O carență în TPP va avea urmări la nivelul oxidării glucozei (prin diminuarea activității complexului piruvatdehidrogenazic) dar și la nivelul oxidării acizilor grași (prin diminuarea activității ciclului Krebs). Toate aceste modificări biochimice vor avea repercusiuni clinice și la nivelul miocardului.

III.1.7.1. Cauzele carenței tiaminice

Deficiențe în aportul alimentar de vitamină B_1 se observă, de regulă, în cazul consumului uniform și de lungă durată a produselor alimentare rafinate (făină foarte albă, orez decorticat etc.), sau a unor alimente supuse unor condiții dure ale procesului culinar (sterilizarea fructelor, legumelor și cărnii în vederea preparării conservelor pentru iarnă, alimente stocate timp îndelungat, alimente preparate la temperaturi foarte înalte etc.).

Carența secundară în tiamină se observă în perturbări ale absorbției intestinale (în diaree sau în infecții intestinale), în urma unor intervenții chirurgicale sau la utilizarea unor medicamente și pansamente gastrice.

Toți factorii care măresc necesarul de vitamină B_1 pot contribui, în egală măsură, la instalarea unei carențe progresive, mai ales dacă sînt asociați cu unele cauze favorizante cum ar fi febra, hipertiroidia, alimentație parenterală prelungită prin perfuzie etc. Carența vitaminică B_1 poate să

apară și ca urmare a acțiunii unor factori ce accelerează eliminarea tiaminei din organism: diabet insipid, diabet zaharat, tratament diuretic prelungit etc.

Din punct de vedere practic, carența vitaminei B_1, din motive alimentare se întîlnește în țările subdezvoltate, în special din Asia de sud-est datorită consumului tradițional de orez decorticat, în timp ce în țările industrializate cauza o constituie alcoolismul cronic.

III.1.7.2. Simptomele clinice ale carenței în tiamină

În urma numeroaselor observații clinice, coroborate cu experiențele pe animale de laborator avitaminizate,au permis detectarea următoarelor categorii de simptome ale avitaminozei B_1:

- *simptome generale*: astenie, pierdere în greutate și anorexie, deranjamente gastrice;
- *dereglări nervoase periferice*: amiotrofie, dureri ale pulpei piciorului la palpare, parestezii și hipoestezii, diminuarea reflexelor oseotendinoase;
- *tulburări psihice severe*: stări depresive, iritabilitate,imposibilitatea concentrării atenției, tulburări de memorie.

Aceste observații sînt în conformitate cu simptomele de debut ale carenței: anorexie și vărsături, deteriorarea rapidă a stării generale, astenie. Abia apoi apar simptomele nervoase periferice, tahicardia, palpitațiile, dispneea etc.

Boala caracteristică avitaminozei B_1 este beri-beri a cărei incidență, în formele ei caracteristice, este relativ crescută în țările Asiei de sud-est. În alte regiuni ale planetei se întîlnește asa numitul "beri-beri occidental" datorat unei utilizări deficitare a tiaminei în alcoolismul cronic. Boala se manifestă relativ diferit în funcție de vîrstă.

a) *Beri-beri la adulți și adolescenți*

Avitaminoza B_1 debutează, din punct de vedere al simptomelor clinice, prin astenie, anorexie, senzații de greață, constipație etc. Tulburările neurologice de tipul depresiei, iritabilității, pierderea memoriei, etc., sînt destul de frecvente. Dacă boala nu este diagnosticată la acest stadiu și nu se instituie vitaminoterapia, ea se agravează instalîndu-se tabloul clasic ce se poate manifesta în trei forme diferite, în funcție de predominarea disfuncțiilor neurologice centrale, periferice sau cardiace.

Forma seacă a bolii se caracterizează prin polinevrită care debutează prin greutate în mers și evoluează pînă la paralizie flască, simetrică predominant la nivelul membrelor inferioare și tulburări trofice musculare. Reflexele osteotendinoase sînt diminuate sau dispar complet.

Forma umedă se caracterizează prin afecțiuni cardiovasculare: miocardită asociată cu tahicardie, dispnee la efort,palpitații și dureri precordiale.

Cordul este mărit în volum și pot exista simptome periferice de sincopă cardiacă dreaptă și edeme ce sînt total rezistente la tratamentul cu cardiotonice și nu răspund decît la vitaminoterapie.

Electrocardiograma poate evidenția o aplatizare sau o inversiere a undelor T cu creștera spațiului QT. Toate acestea pot provoca deseori moarte subită.

Așa-numitul *beri-beri cerebral* este reprezentat de encefalopatia Gayet-Wernicke. Incidența acesteia a fost deosebit de crescută în timpul celui de-al doilea război mondial și se caracterizează prin leziuni similare cu cele din encefalopatia alcoolică și unele manifestări psihice cum ar fi dezorientarea temporo-spațială, apatie, confuzie, amnezie, oftalmoplegie etc.

Histologic, se observă degenerescență la nivelul stratului granular al cerebelului, hemoragii cerebrale perivasculare, degenerescența neuronilor etc. Dacă nu se instituie tratament de urgență constînd în administrarea masivă și prelungită de tiamină (pînă la 1 g/zi intramuscular sau intravenos) există riscul instalării sindromului Korsakoff, caracterizat prin tulburări psihice asociate cu polinevrită.

Evoluția bolii pînă la acest stadiu este de obicei ireversibilă și este favorizată genetic de o malformație congenitală ce diminuează afinitatea apotranscetolazei pentru coenzima sa (TPP).

b) *Beri-beri la nou-născuți și copii* prezintă, de regulă, o evoluție acută. Se observă deseori asistolie acută și insuficiență cardiacă ce nu cedează la administrarea de cardiotonice. Boala se manifestă, de asemenea, prin inapetență, vomă, tulburarea somnului și pierderea în greutate urmată de hipertonie musculară. Evoluția este rapidă, decesul putînd surveni după 12-24 ore de la debutul simptomelor inițiale dacă nu se instituie tratamentul adecvat. Această formă extrem de gravă de beri-beri poate surveni, în principal, la nou-născuți alăptați de mame cu hipovitaminoză B_1.

La copii, manifestările clinice ale bolii sînt apropiate de cele observate la adolescenți și constau în polinevrită, encefalopatie Gayet-Wernicke sau miocardită.

Un aspect aparte îl reprezintă pericolul apariției avitaminozei B_1 în nutriția prelungită exclusiv parenterală. Literatura de specialitate citează cazuri, relativ frecvente, de apariție a carenței acute de tiamină la prematuri hrăniți exclusiv parenteral, cînd vitamina B_1 a fost exclusă accidental.

c) *Avitaminoza B_1 în alcoolism*

Cu excepția țărilor în care orezul decorticat reprezintă alimentul de bază al populației, în celelalte regiuni ale planetei, incidența maximă a cazurilor de avitaminoză B_1 la adulți se întîlnește la consumatorii cronici de alcool. Studii relativ recente efectuate în Europa occidentală, Australia și

SUA, atestă faptul că majoritatea subiecților diagnosticați cu beri-beri era formată din alcoolici cronici. Autorii recomandă administrarea sistematică de tiamină (1 g intravenos) la toți alcoolicii. Mai mult decît atît, în cazurile de acidoză lactică acută, se recomandă ca tratament de urgență administrarea de tiamină.

d) *Maladii metabolice ereditare tiamino-dependente*

Spre deosebire de stările acute de avitaminoză B_1, există o serie de maladii metabolice ereditare ale căror simptome clinice și biochimice cedează numai la administrarea continuă și în doze masive a tiaminei, deși nivelul acesteia în sînge și urină, precum și activitatea transcetolazică sînt normale. Acestea constituie un veritabil model în studiul rolului biologic al tiaminei, dat fiind faptul că ele oferă posibilitatea unică de evaluare a consecințelor clinice și biochimice ale întreruperii unei căi metabolice tiamino-dependente la om.

Pînă în prezent s-au observat patru asemenea maladii, însă înțelegerea deplină a mecanismului lor fiziopatologic rămîne parțial neelucidată.

Leucinoze sensibile la tiamină

Leucinoza este o eroare ereditară metabolică ce afectează procesul de decarboxilare oxidativă a trei α-cetoacizi rezultați în urma transaminării leucinei, izoleucinei și valinei. Din această cauză se observă o creștere a concentrației sanguine și urinare a celor trei aminoacizi și a cetoacizilor corespunzători. Formele acute corespund unui deficit enzimatic total și debutează prin comă chiar în perioada neonatală. În formele mai puțin severe, cu debut tardiv, activitatea enzimatică este redusă (2-30 % din valoarea normală). Simptomele clinice pot să apară după 1 lună-2 ani și constau în ataxie, vărsături, întîrzierea creșterii, acidoză, convulsii, retardare mentală etc. În majoritatea cazurilor, instituirea unei vitaminoterapii adecvate, a determinat o evoluție favorabilă. Dozele de tiamină administrate în vederea normalizării parametrilor biochimici și dispariției simptomelor clinice oscilau între 10 și 1000 mg/zi.

Din punct de vedere biochimic se observă o scădere a afinității BCKA-dehidrogenazei (dehidrogenazele cetoacizilor ramificați - Branches Chain Keto Acid dehydrogenase) față de TPP (K_M=25 μM față de 1,6 μM valoare normală).

Acidoza lactică congenitală sensibilă la tiamină

Studiile și observațiile efectuate pînă în prezent indică o incidență foarte mică a bolnavilor cu tulburări ereditare ale metabolismului piruvatului ce reacționează la tiamină. Datele raportate se referă la copii cu vîrste cuprinse între 1 zi și 8 ani. În toate cazurile s-au semnalat anomalii neurologice, convulsii, ataxie și lactacidemie ușor crescută. Doze foarte mari de tiamină

(peste 1,5 g/zi) au determinat dispariția sau cel puțin ameliorarea simptomelor. Observațiile clinice n-au fost extinse în aceste cazuri și asupra studiului mecanismelor moleculare din cauza dificultăților studiului complexului piruvatdehidrogenazei al fibroblastelor în cultură.

Encefalopatia necrotică subacută Leigh-Feigin-Wolf

Această afecțiune este extrem de heterogenă și este cauzată de o multitudine de factori metabolici: deficit de piruvat-carboxilază, de piruvatdehidrogenază, de citocrom c-reductază, de biotinidază etc. Deoarece în urma administrării de tiamină în doze mari are loc o ameliorare indiscutabilă a maladiei, se consideră că acest sindrom este tiamino-dependent, deși părerile specialiștilor sînt controversate.

Anemia megaloblastică tiamino-dependentă

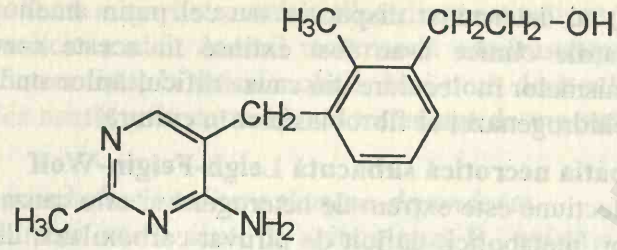
Asocierea anemiei megaloblastice cu surditatea neurosenzorială, diabetul zaharat și cu manifestările neurologice și cardiace acute asemănătoare celor din beri-beri, constituie o problemă pe cît de misterioasă, pe atît de interpretabilă privind rolul biologic al tiaminei. Coincidența acestei maladii cu consangvinitatea parentală pledează pentru o ereditate de tip recesiv autosomal.

Anemia apare în general în primul an de viață, uneori în primele săptămîni ale perioadei neonatale, ca anemie megaloblastică și sideroblaști medulari neregenerativi,rezistentă la cobalamină (vitamina B_{12}), acid folic și piridoxină (vitamina B_6). Ea este constant asociată cu surditate neurosenzorială bilaterală și diabet zaharat, cu o curbă anormală a hiperglicemiei provocate. Natura dereglărilor metabolice primare rămîne necunoscută. Tiaminemia și activitatea transcetolazică sînt normale sau ușor crescute. În toate cazurile observate pînă în prezent, administrarea de vitamină B_1 determină efecte spectaculoase în sens pozitiv.

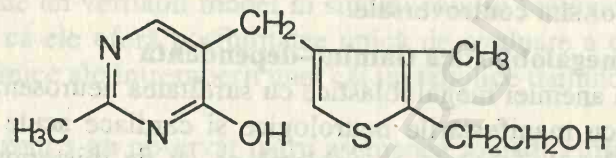
III.1.8. Antivitamine B_1

Există numeroase substanțe cu acțiune antagonistă tiaminei care pot fi omologi structurali ai acesteia, dar pot avea și structuri chimice total diferite.

Printre omologii structurali cu acțiune antivitaminică B_1, cei mai importanți sînt *neopiritiamina* în care ciclul tiazolic este înlocuit cu un nucleu piridinic și *hidroxitiamina*, în care gruparea aminică este înlocuită cu o grupare alcoolică.



neopiritiamina



hidroxitiamina

Printre substanțele cu acțiune antivitaminică B_1 foarte accentuată se numără și *tiaminazele*, enzime ce se găsesc în unele specii de pești cum ar fi crapul și heringii, unele crustacee, unele plante (*Pteris aquilina*), și unele microorganisme (*Bacillus aneurinolyticus*).

Acțiunea antivitaminică a tiaminazelor constă în degradarea de către acestea a moleculei de tiamină cu clivarea celor doi heterocicli. Ca antivitamine mai acționează și unii pigmenți de tipul *astragalinului, izovercetinului* sau *rutinului*.

BCU IASI CENTRU UNIVERSITAR LIBRARY

III.2 VITAMINA B_2 (RIBOFLAVINA, VITAMINA G)

III.2.1. Generalități

Pentru prima dată, riboflavina a fost identificată în lapte în 1879 de către Blyth sub forma unui pigment galben-verzui fluorescent, care a primit numele de lactoflavină. Mult mai tîrziu, în 1932, Keihn descoperă un pigment cu proprietăți asemănătoare în albușul de ou pe care-l numește ovoflavină. Ulterior a fost semnalată prezența unor compuși similari în ficat, rinichi, urină, mușchi, drojdii, unele plante (lucernă) etc., primind denumiri derivate de la materialul biologic unde au fost identificați: hepatoflavină, uroflavină, verdoflavină etc. După determinarea structurii chimice s-a demonstrat că de fapt este vorba de una și aceeași substanță, cu proprietăți fluorescente, care a primit numele de riboflavină deoarece conține un rest ribitil.

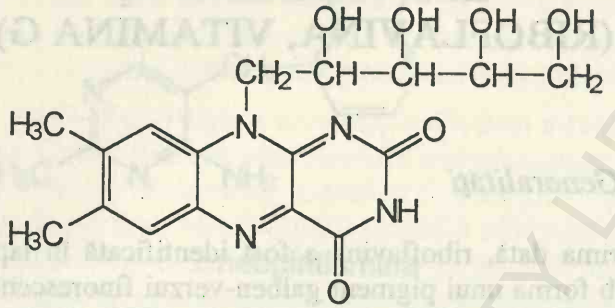
Primele cercetări asupra rolului biologic al riboflavinei au fost demarate încă înainte de elucidarea formulei sale chimice. Astfel, Kuhn și György arată că dacă șobolanii tineri sînt supuși la o dietă sintetică cu adaus de tiamină, aceștia scad în greutate, restaurarea creșterii avind loc în urma adausului de lapte, ficat sau tărîțe de orez. Cum în perioada respectivă nu erau cunoscute metodele biologice sau fizio-chimice de analiză, Kuhn reușește să demonstreze că rata de creștere în greutate a animalelor de experiență depinde în mod direct de intensitatea fluorescenței concentratelor folosite la prepararea hranei și postulează că vitamina B_2 este identică cu pigmentul galben-verzui care determină fluorescența. După numeroase cercetări el reușește să izoleze din lapte și ou și să purifice riboflavina care, adăugată în rația animalelor a determinat o puternică acțiune de stimulare a creșterii.

Concomitent Ellinger și Koschara izolează din drojdie, lapte, ser și alte surse o substanță fluorescentă pe care o numesc liocrom. Denumirea de riboflavină a fost dată acestor pigmenți fluorescenți în 1933, după ce Kuhn și Karrer arată că în structura lor intră un nucleu izoaloxazinic legat de un radical ribitil.

III.2.2. Structura chimică și proprietățile riboflavinei

Din punct de vedere structural, riboflavina este 6,7-dimetil-9-(D-1'-ri-

bitil)-izoaloxazina:

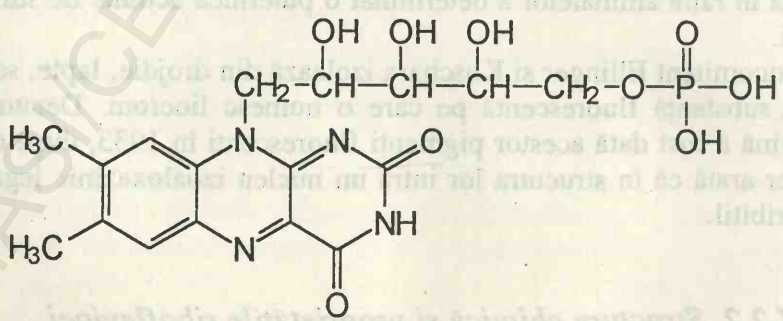


Această structură a fost confirmată și prin sinteză chimică.

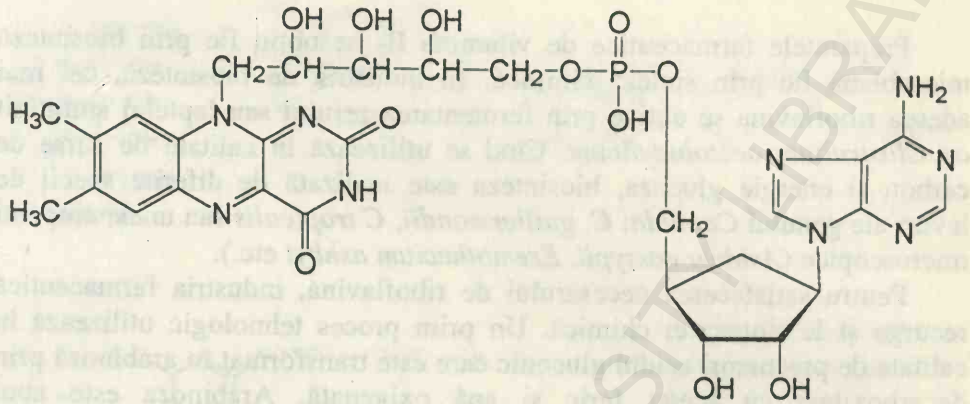
Riboflavina este o substanță cristalină, de culoare galben-oranj, fără miros, cu gust amar și cu solubilitate în apă diferită, în funcție de polimorfismul structural, cuprinsă între 140 și 2300 μg/ml. Leucoderivatul obținut prin reducerea riboflavinei este un compus incolor, lipsit de fluorescență și cu solubilitate redusă (aproximativ 8 μg/ml la temperatura camerei), proprietate ce stă la baza precipitării selective a riboflavinei din produsele naturale.

Riboflavina este ușor solubilă într-o serie de solvenți cum ar fi alcoolul amilic, fenolul, ciclohexanolul, alcoolul benzilic etc., dar insolubilă în eter, acetonă, cloroform și benzen. Soluțiile alcaline au acțiune distructivă asupra riboflavinei, aceasta fiind stabilă în mediu acid și în prezența agenților oxidanți obișnuiți cum ar fi apa de brom, apa oxigenată sau acidul azotic. Astfel, într-o concentrație de 5 μg/ml, riboflavina nu se modifică structural la 100 °C timp de o oră la pH cuprins între 1,3 și 6,5.

Culoarea galbenă a flavinelor este datorată maximului de absorbție în domeniul albastru și violet ale spectrului. În organismele vii riboflavina se găsește atît în stare liberă cît și sub forma a doi derivați nucleotidici cu rol coenzimatic flavin-mononucleotidul (FMN) și flavinadenindinucleotidul (FAD):



Flavinmononucleotid (FMN, riboflavin-5'-fosfat)



Flavinadenindinucleotid (FAD)

Spectrele de absorbție ale riboflavinei și FMN sînt identice, în timp de spectrul FAD-ului pare a avea unele deviații. Din punctul de vedere al mobilității electroforetice, coenzimele flavinice se comportă ca anioni la pH=7,2 în timp ce riboflavina se comportă ca o moleculă neutră.

Spre deosebire de riboflavină, care este instabilă în mediu alcalin, FMN este destul de stabil, iar FAD-ul se transformă într-un compus ciclic.

III.2.3. Stare naturală

În diferite surse naturale, vitamina B_2 se găsește atît sub formă de riboflavină liberă cît și sub forma celor două coenzime nucleotidice. Cea mai bogată sursă de riboflavină pentru om este drojdia de bere care conține pînă la 7 mg/100 g. Obținerea preparatelor farmaceutice de vitamină B_2 se face prin fermentație, prin utilizarea unor tulpini microbiene de *Ashbya gossypii* și *Candida guillermondii*, bune producătoare de riboflavină.

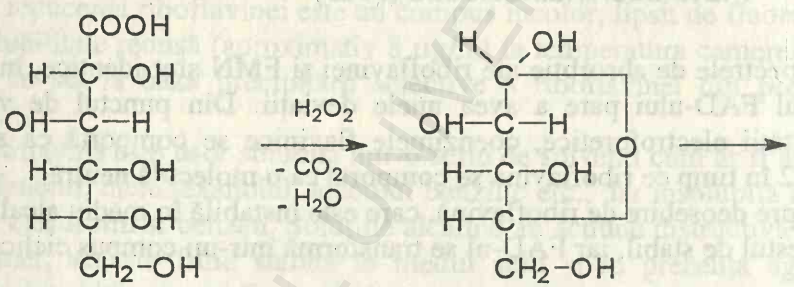
Marea majoritate a alimentelor de origine animală sau vegetală conțin cantități apreciabile de riboflavină ce satisfac pe deplin necesitățile organismului uman. Printre alimentele cele mai bogate în vitamină B_2 se numără ficatul, brînzeturile, ouăle, mușchiul de vită și porc, vinul roșu și mai puțin cel alb, spanacul, tomatele, ceaiul etc.

Conținutul în riboflavină al fructelor și zarzavaturilor crește pînă la maturitate, după care scade treptat. În procesul de maturare al cașcavalului, între a 3-a și a 6-a lună conținutul în vitamină crește, de asemenea, considerabil.

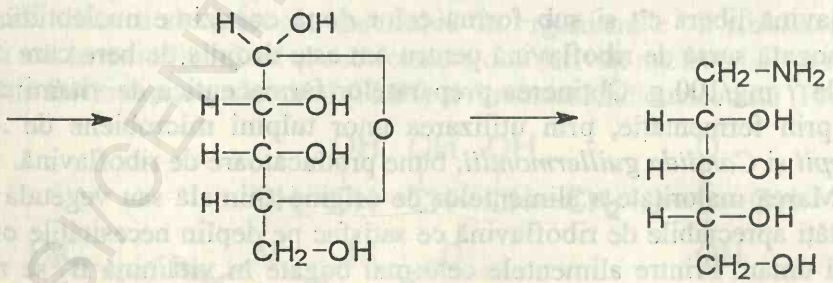
III.2.4. Sinteza chimică a riboflavinei

Preparatele farmaceutice de vitamină B_2 se obțin fie prin biosinteză microbiană fie prin sinteză chimică. În industria de biosinteză, cel mai adesea riboflavina se obține prin fermentarea zerului sau laptelui smîntînit cu *Clostridium acetobutylicum*. Cînd se utilizează în calitate de surse de carbon și energie glucoza, biosinteza este realizată de diferite specii de levuri ale genului *Candida*: *C. guillermondii, C.tropicalis* sau unele ciuperci microscopice (*Ashbya gossypii, Eremothecium ashbyi* etc.).

Pentru satisfacerea necesarului de riboflavină, industria farmaceutică recurge și la sinteza ei chimică. Un prim proces tehnologic utilizează în calitate de precursori acidul gluconic care este transformat în arabinoză prin decarboxilare cu acetat feric și apă oxigenată. Arabinoza este apoi transformată în riboză, iar oxima acesteia trece în ribamidă:

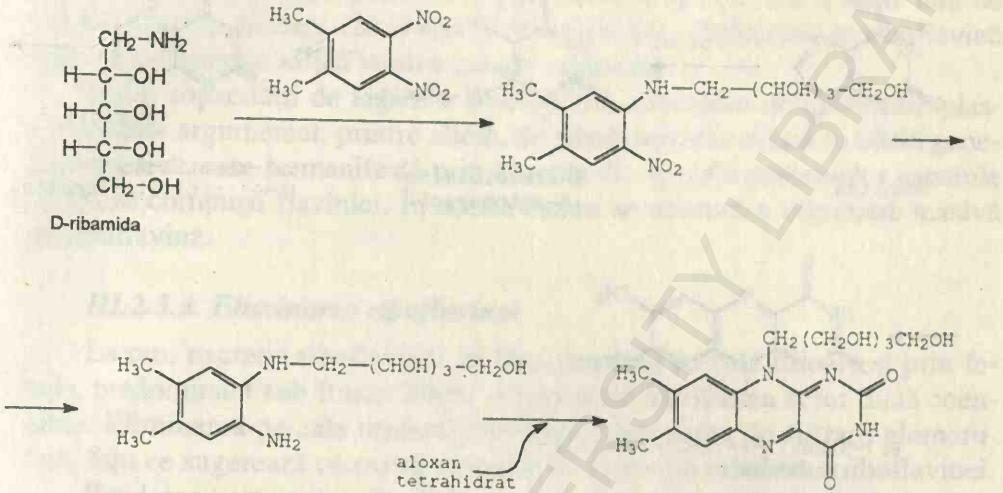


acid D-gluconic D-arabinoza



D-riboza D-ribamida

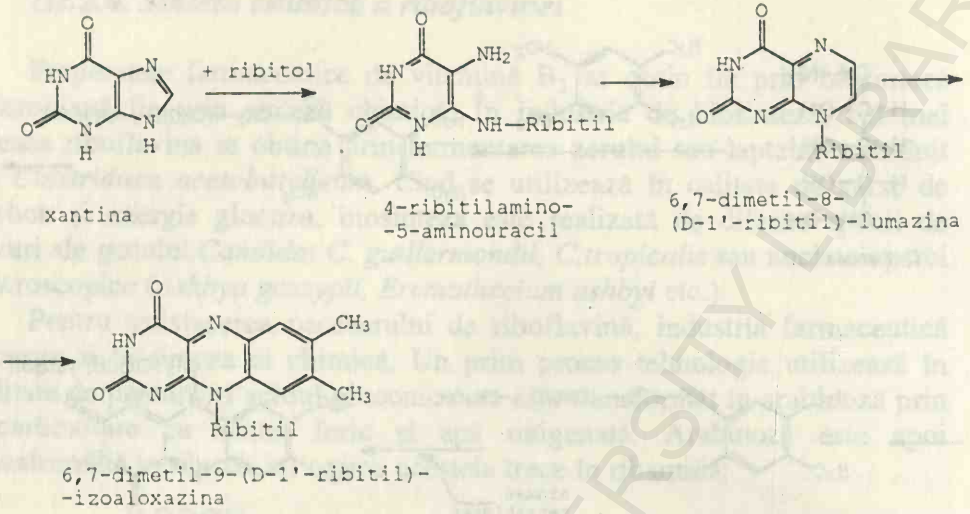
D-Ribamida formată este condensată cu 1,2-dimetil-4,5-dinitrobenzen în mediu alcoolic la 130°C, iar produsul rezultat este redus la amino-derivatul corespunzător ce se condensează în mediu acid cu tetrahidrat de aloxan cu formare de riboflavină:



În decursul timpului au fost brevetate alte noi metode se sinteză chimică a riboflavinei, în toate cazurile fiind necesară sinteza ribozei sau a unor derivați ai acesteia plecînd fie de la acidul gluconic fie de la sedoheptuloză. Mai există o serie de metode ce utilizează drept precursor D-arabinoza.

III.2.5. Metabolismul riboflavinei

În organismul animal și uman, cantități însemnate de riboflavină sînt sintetizate la nivelul intestinului de către flora sa microbiană. Deși sînt numeroase date experimentale ce atestă participarea purinelor și metaboliților lor la biosinteza riboflavinei, mecanismul acestor secvențe metabolice nu este complet elucidat. Majoritatea autorilor, utilizînd metoda izotopilor radioactivi, ajung la concluzia că principalii precursori în biosinteza riboflavinei sînt unii compuși cu structură purinică (adenină, guanină, xantina), precursori cu structură pirimidinică (timina), apoi serina, glicină, acidul formic, acidul acetic, CO_2 și glucoza. Fără a indica unele etape intermediare și fără a indica mecanismele de reacție, Kishi propune următoarea schemă simplificată de biosinteză a riboflavinei prin utilizarea xantinei in calitate de precursor:



xantina

4-ribitilamino-
-5-aminouracil

6,7-dimetil-8-
(D-1'-ribitil)-lumazina

6,7-dimetil-9-(D-1'-ribitil)-
-izoaloxazina

III.2.5.1. Absorbția intestinală a riboflavinei

Fenomenul de absorbție a vitaminei B_2 se realizează în zonele superioare ale tractului gastro-intestinal printr-un mecanism incomplet elucidat. Fosforilarea riboflavinei cu formare de FMN are loc la nivelul mucoasei intestinale, dar nu se cunoaște încă dacă acest proces este sau nu realmente necesar procesului de absorbție în sine. Capacitatea de absorbție intestinală a riboflavinei și derivaților săi este însă limitată. S-a observat astfel că administrarea de FMN la subiecți normali conduce la o eliminare pe cale renală proporțională cu doza ingerată. La doze mari însă (peste 50 mg FMN) nu are loc și o creștere a ratei de excreție, fapt ce sugerează existența unui mecanism special de absorbție după o anumită doză.

Viteza de absorbție crește considerabil cînd FMN este administrat cu intermitență, deoarece în acest caz are loc fie o mărire a timpului de contact cu mucoasa intestinală, fie o secreție de bilă indusă de alimente. Se presupune că sărurile biliare joacă un rol pozitiv în absorbția FMN la nivel intestinal, dar mecanismul prin care acestea sînt implicate în procesul propriu-zis nu este elucidat.

La animalele de experiență a fost demonstrată existența unui ciclu entero-hepatic care explică existența a două picuri de excreție urinară a riboflavinei după administrarea sa orală. Riboflavina secretată pe cale biliară este reabsorbită complet.

III.2.5.2. Transportul plasmatic al riboflavinei

După absorbție, cea mai mare parte de riboflavină se leagă sub formă de FMN de proteinele plasmatice, în special de serumalbumină. Cu toate

acestea, afinitatea FMN pentru albumină este mult mai mică decît față de diferite enzime tisulare din clasa flavoproteinelor. Proporția de riboflavină legată de albumină serică rămîne relativ constantă.

Rolul capacității de legare a riboflavinei circulante de proteinele plasmatice este argumentat, printre altele, de riboflavinuria aviară, o boală genetică recesivă, care se manifestă prin absența din sînge a proteinelor capabile să fixeze compușii flavinici. În aceste cazuri se observă o eliminare masivă de riboflavină.

III.2.5.3. Eliminarea riboflavinei

La om, excreția riboflavinei se face simultan pe cale urinară și prin fecale, predominant sub formă liberă și mai puțin sub forma celor două coenzime. Eliminarea pe cale urinară depășește capacitatea de filtrare glomerulară, fapt ce sugerează că există probabil și o secreție tubulară a riboflavinei.

Ponderea proteinelor din dietă determină excreția riboflavinei care este cu atît mai scăzută cu cît aportul proteic este mai mare și invers. Eliminarea pe cale renală a vitaminei B_2 mai reprezintă și o măsură a aportului zilnic de riboflavină. Această vitamină mai este secretată și de glanda mamară, cu viteză suficient de mare, de pînă la 300 μg/24 ore, fapt extrem de important din punctul de vedere al aportului vitaminic pentru nou-născut.

III.2.5.4. Stocarea și utilizarea riboflavinei

Rolul metabolic principal al riboflavinei constă în participarea sa în cataliza diferitelor reacții biochimice sub forma celor două coenzime, FMN și FAD. Acești compuși nucleotidici au capacitatea de a forma interacțiuni puternice cu un mare număr de apoenzime. Astfel, majoritatea țesuturilor conține vitamina B_2 stocată sub formă de riboflavină doar în cantități foarte mici, cea mai mare parte a rezervelor existînd sub formă de FAD și FMN.

Concentrația riboflavinei circulante oscilează între limite destul de largi: 49-104 μg/l în sînge, 26-37 μg/l ser, 180-265 μg/l în eritrocite și 2,27-2,95 μg/l leucocite. În țesuturi concentrația este mai mare: 25 μg/g în ficat, 13 μg/g în inimă, 2,7 μg/g în mușchii striați etc. Din totalul riboflavinei sanguine, între 70-90 % este legată sub formă de FAD, între 5-30 % sub formă de FMN și doar 0,5-2 % sub forma vitaminei libere. Trebuie remarcat că în literatura de specialitate sînt date valori relativ diferite ale conținutului diferitelor țesuturi și organe în vitamină B_2, cifrele indicate de fiecare autor depinzînd de metoda de dozare utilizată.

Dacă bilanțul azotat este pozitiv, la nivelul țesuturilor are loc o intensificare a sintezei de flavoproteine și o diminuare a eliminării riboflavinei pe cale urinară, iar dacă acesta este negativ, precum și în perioada pubertară,

are loc o accelerare a procesului de degradare tisulară a flavoproteinelor cu creșterea excreției urinare. Se pare însă că există niște limite extreme ale conținutului în coenzime flavinice al țesuturilor ce nu sînt depășite, indiferent de aportul de vitamină exogenă.

Mecanismul prin care se menține acest nivel al coenzimelor flavinice este puțin cunoscut și se pare că la baza lui nu stă reglarea de tip feed back a enzimelor implicate în biosinteza FAD-ului (flavokinaza, FMN-pirofosforilaza) sau în degradarea sa (pirofosfataza, FMN-fosfataza). Este foarte posibil ca FAD-ul nelegat de apoenzime să fie mult mai susceptibil față de acțiunea hidrolazelor specifice comparativ cu FAD-ul legat. De aceea, cînd cantitatea de FAD nou sitetizat depășește capacitatea de legare a apoenzimelor, fracțiunea liberă este mai degrabă hidrolizată enzimatic decît stocată. În experiențe pe șobolani s-a demonstrat că timpul de înjumătățire tisulară a riboflavinei marcate este de aproximativ 16 zile.

III.2.5.5. Controlul tiroidian al metabolismului riboflavinei

Hormonii tiroidieni induc activitatea flavokinazei ce catalizează fosforilarea riboflavinei cu formare de FMN. În felul acesta, nivelul hepatic al FMN și FAD, precum și enzimele implicate în biosinteza acestor cofactori se află sub controlul hormonilor glandei tiroide.

În hipotiroidie, cantitățile de FMN, FAD și riboflavină hepatică sînt reduse cu pînă la 70 %. Aceste considerații, coroborate cu alte observații clinice și biologice au sugerat ipoteza că hipotiroidia poate reprezenta una din formele de deficit de riboflavină.

III.2.6 Rolul biologic al riboflavinei

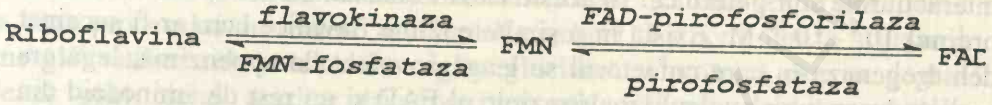
Principala funcție a riboflavinei în organismele vii o constituie participarea acesteia, sub formă de FAD si FMN în calitate de cofactor a unui mare număr de enzime flavinice. Enzimele FMN- și FAD-dependente fac parte din catena respiratorie, participă la procesul fotosintetic, dezaminarea oxidativă a aminoacizilor, oxidarea hidroxiacizilor și a aldehidelor, la procesele de încorporare a iodului în căile de biosinteză a hormonilor tiroidieni etc.

Datorită participării sale în structura enzimelor flavin-dependente, vitamina B_2 este absolut indispensabilă metabolismului normal al tuturor organismelor vii, reglării procesului de creștere, asigurării integrității morfologice și funcționale a pielii și mucoaselor precum și a corneei. Specificitatea acțiunii vitaminice a riboflavinei depinde în mare măsură de prezența celor două grupe metilice ale nucleului izoaloxazinic, de absența unor substituenți la azotul grupării -NH din poziția 3 precum și de natura zahărului din poziția 9 a aceluiași nucleu.

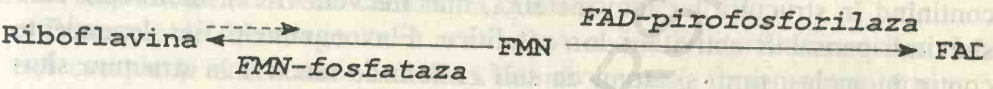
III.2.6.1. Intertransformarea riboflavină-FMN-FAD

Interconversia dintre riboflavină și formele sale nucleotidice este diferită la subiecții normali și cei cu carență în vitamină B_2 și poate fi redată schematic astfel:

- la subiecții normali:



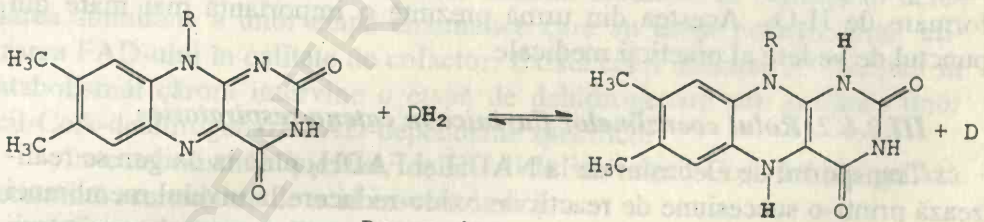
- în carență vitaminică:



FMN și FAD acționează în calitate de cofactori în numeroase procese de dehidrogenare și oxidare.

Partea activă a coenzimelor flavinice, responsabilă de realizarea proceselor de oxido-reducere la care participă flavoenzimele, o constituie nucleul izoaloxazinic, mai exact sistemul celor două legături duble conjugate

-N=C-C=N- din ciclurile B și C ale acestui nucleu. În reacțiile de dehidrogenare a substratelor, acest sistem de legături duble are capacitatea de a da reacție de adiție 1,4 similară cu cea de la diene, iar în procesele de reducere are loc reacția inversă:



FMN (FAD) Donor de hidrogen $FMNH_2$ ($FADH_2$)

De regulă, aceste reacții se ilustrează ca un proces de transfer direct al unei perechi de atomi de hidrogen proveniți de la substrat. În realitate, reacția are loc în două etape, în fiecare din ele avînd loc fixarea cîte unui echivalent reducător, ceea ce înseamnă că se formează în calitate de produs intermediar, instabil, un carbocation.

Dehidrogenazele flavinice se deosebesc net de cele piridinice (NAD-dependente) atît din punct de vedere al mecanismului de acțiune cît și în ceea ce privește natura interacțiunilor dintre cofactori și apoenzime. Cofactorii flavinici sînt legați puternic de apoenzimele dehidrogenazelor astfel

încît aceştia se comportă mai mult ca grupări prostetice decît ca şi coenzime. Cofactorii flavinici rămîn legaţi atît în timpul realizării actului catalitic cît şi după această acţiune.

La majoritatea dehidrogenazelor FAD-dependente, în particular la NADH-dehidrogenază, cofactorul se leagă de apoenzimă necovalent, deşi interacţiunile sînt puternice. În aceste cazuri constantele de disociere sînt de ordinul 10^{-8}- 10^{-11} M. Există însă şi alte enzime flavinice cum ar fi succinat dehidrogenaza în care cofactorul se leagă covalent de apoenzimă, legătura realizîndu-se între nucleul izoaloxazinic al FAD şi un rest de aminoacid din secvenţa polipeptidică a apoenzimei.

Unele flavoproteine sînt în acelaşi timp şi enzime metal-dependente, conţinînd în structura lor ioni metalici, mai frecvent fier şi molibden, care sînt indispensabili activităţii lor catalitice. Flavoenzimele fier-dependente conţin în acelaşi timp şi atomi de sulf extrem de reactivi în structura situsului lor catalitic. Formele oxidante ale diferitelor enzime flavin-dependente sînt intens colorate în galben, roşu sau verde datorită absorţiei intense în domeniul vizibil al spectrului. În procesul reducerii ele se decolorează datorită modificării spectrului lor de absorbţie. Această proprietate stă la baza unor metode de determinare a activităţii dehidrogenazelor flavinice.

Oxido-reductazele flavinice pot fi grupate în două categorii, în funcţie de sensul reacţiei: dehidrogenaze şi oxidaze. În dehidrogenaze, tendinţa de reoxidare a nucleotidelor flavinice reduse este minoră sau absentă în contact cu oxigenul molecular. În acelaşi timp, formele reduse ale oxidazelor flavinice dau uşor reacţii de oxidare în prezenţa oxigenului molecular, cu formare de H_2O_2. Acestea din urmă prezintă o importanţă mai mare din punctul de vedere al practicii medicale.

III.2.6.2. Rolul coenzimelor flavinice în catena respiratorie

Transportul de electroni de la NADH şi $FADH_2$ pînă la oxigen se realizează printr-o succesiune de reacţii de oxido-reducere la nivelul membranei interne a mitocondriilor cu participarea componenţilor catenei respiratorii (dehidrogenaze flavoproteice, ubichinona, sistemul citocromic şi Fe-S-proteine). Aceştia reprezintă aproximativ 25 % din proteinele membranei interne mitocondriale. Fiecare treaptă a lanţului respirator este reprezentată de o reacţie redox între doi constituienţi ai catenei cu potenţial de oxido-reducere diferit.

Constituienţii catenei respiratorii prezintă solubilitate diferită în lipidele membranare fiind posibilă izolarea unor complecşi lipoproteici ce conţin o parte din aceşti transportori. Prin tratarea cu alcool amilic sau cu deoxicolat a mitocondriilor din inima de bou, Green a izolat patru asemenea complecşi, notaţi cu I,II,III şi IV. Complexul I care este de fapt NADH-coenzima Q-reductaza conţine NADH-dehidrogenaza, complexul II, sau succinat-coenzi-

ma Q-reductaza conține succinat-dehidrogenaza și citocromul b, complexul III (coenzima Q-citocrom c-reductaza) conține citocromii b și c_1 și coenzima Q, iar complexul IV sau citocrom c-oxidaza, conține citocromii a și a_3.

Toți acești complecși lipoproteici conțin 20-30 % lipide, iar în primii trei se găsesc și proteine ce conțin fier neheminic (Fe-S-proteine și Fe-proteine).

Riboflavina joacă un rol major în funcționarea catenei respiratorii stînd la baza procesului de reglare a utilizării energiei. Ea controlează utilizarea energiei tuturor substratelor de origine glucidică și proteică care se degradează prin ciclul acizilor tricarboxilici sub acțiunea dehidrogenazelor NADH-dependente și intră în catena respiratorie la nivelul complexului I. Succinatul, sub acțiunea succinat-dehidrogenazei (complexul II) intră în catena respiratorie la nivelul coenzimei Q din complexul III.

Procesele de dehidrogenare a acetil-CoA necesită intervenția succesivă a trei complecși enzimatici: acil-CoA-dehidrogenaza, flavoproteina transportoare de electroni (*electron transferring flavoprotein* - ETF) și respectiv dehidrogenaza flavoproteinei transportoare de electroni (*electron transferring flavoprotein dehydrogenase* - ETF-DH). Toate acestea utilizează FAD sau $FADH_2$ în calitate de cofactor. Integrarea în lanțul respirator are loc, ca și în cazul succinatului, la nivelul coenzimei Q (complex III).

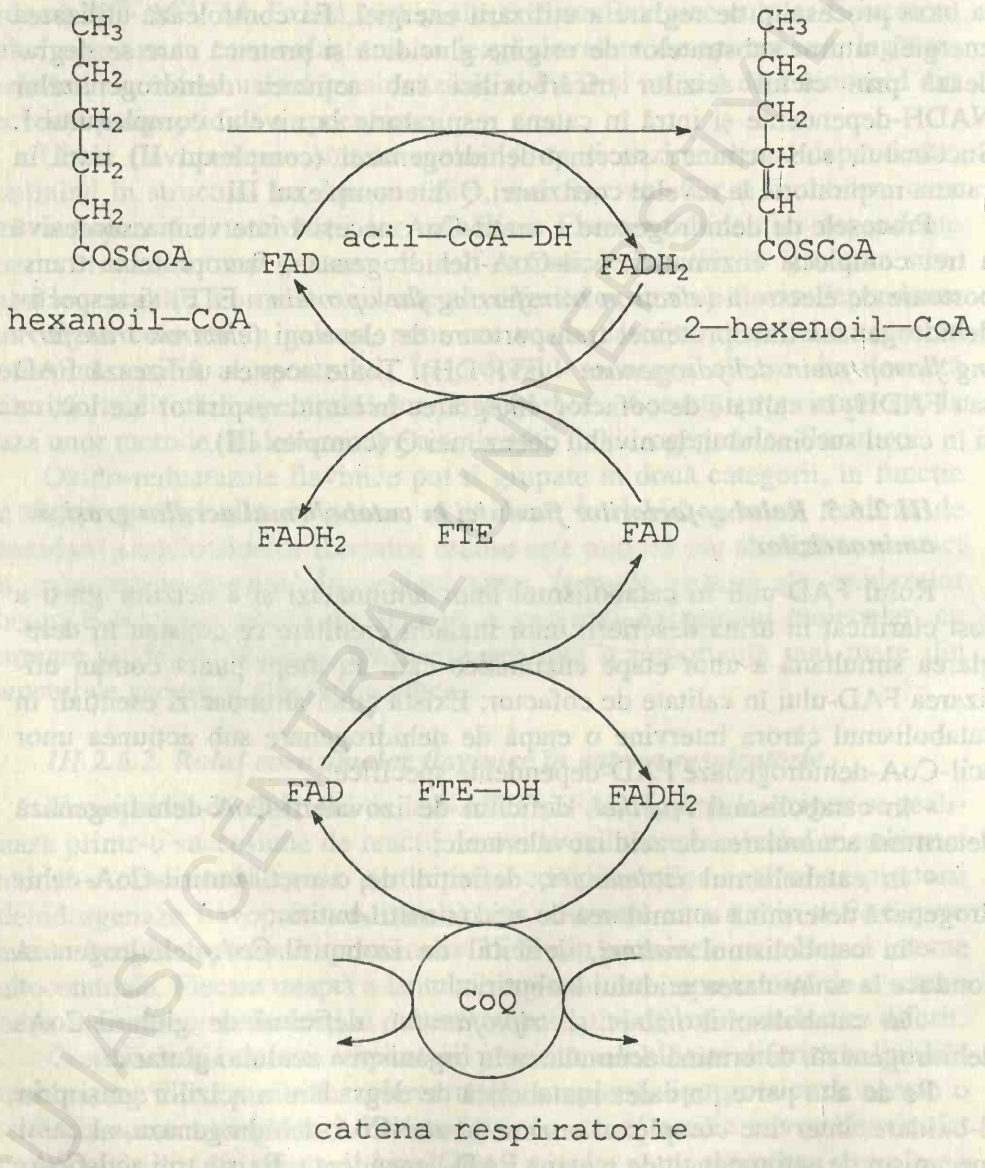
III.2.6.3. Rolul cofactorilor flavinici în catabolismul acizilor grași și aminoacizilor

Rolul FAD-ului în catabolismul unor aminoacizi și a acizilor grași a fost clarificat în urma descrierii unor maladii ereditare ce constau în dereglarea simultană a unor etape enzimatice care au drept punct comun utilizarea FAD-ului în calitate de cofactor. Există cinci aminoacizi esențiali în catabolismul cărora intervine o etapă de dehidrogenare sub acțiunea unor acil-CoA-dehidrogenaze FAD-dependente specifice:

- în catabolismul *leucinei*, deficitul de izovaleril-CoA-dehidrogenază determină acumularea de acid izovalerianic;
- în catabolismul *izoleucinei*, deficitul de α-metil-butiril-CoA-dehidrogenază determină acumularea de acid α-metil-butiric;
- în catabolismul *valinei*, deficitul de izobutiril-CoA-dehidrogenază conduce la acumularea acidului izobutiric;
- în catabolismul *lizinei* și *triptofanului*, deficitul de glutaril-CoA-dehidrogenază, determină acumularea în organism a acidului glutaric.

Pe de altă parte, în calea metabolică de degradare a acizilor grași prin β-oxidare, intervine complexul enzimatic acil-CoA-dehidrogenaza, al cărui mecanism de acțiune include o etapă FAD-dependentă. Există trei acil-CoA-dehidrogenaze mitocondriale specifice, în funcție de mărimea catenei hidrocarbonate a restului acil: acil-CoA-dehidrogenaza "de catenă lungă" ce

acționează asupra resturilor acil C_{12}-C_{18}, acil-CoA-dehidrogenaza "de catenă medie" specifică acizilor grași C_6-C_{14} și respectiv acil-CoA-dehidrogenaza "de catenă scurtă" sau butiril-CoA-dehidrogenaza care oxidează acizii grași C_4-C_6. Rolul enzimelor flavinice în aceste procese de dehidrogenare poate fi reprezentat schematic luînd ca exemplu oxidarea hexanoil-CoA:



BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Toate aceste sisteme enzimatice sînt intramitocondriale. Fiecare sistem conține cîte o acil-CoA-dehidrogenază specifică în raport cu fiecare acil-CoA și cîte doi transportori de electroni: flavoproteina transportoare de electroni (FTE) și respectiv dehidrogenaza flavoproteinei transportoare de electroni (FTE-DH) care este o Fe-S-flavoproteină. FTE și FTE-DH sînt comune tuturor acil-CoA-dehidrogenazelor și reglează transferul de electroni de la acil-CoA-dehidrogenaze la coenzima Q din catena respiratorie.

FAD este puternic legat în complexul acil-CoA-dehidrogenazic, fapt constatat prin determinarea constantei K_M pentru izovaleril-CoA-dehidrogenază care este de ordinul a cîțiva micromoli. Această constatare, precum și faptul că activitatea FTE rămîne, de regulă, constantă, chiar dacă activitatea acil-CoA-dehidrogenazei scade în ficatul șobolanilor carențați în riboflavină, sugerează că FAD este legat totuși mult mai puternic de FTE decît de dehidrogenaza ca atare. Această ipoteză este confirmată și de faptul că activitatea acil-CoA-dehidrogenazei reprezintă factorul limitant al procesului la șobolanii cu carență în riboflavină.

Pentru fibroblaștii umani în cultură, valoarea K_M pentru FAD față de acil-CoA-dehidrogenaza "de catenă medie" este mai mică de 1 μmol/l. Legarea FAD de acil-CoA-dehidrogenaza "de catenă ramificată" precum și de FTE și FTE-DH în fibroblaștii umani încă nu a fost studiată.

III.2.7. Necesarul de vitamină B_2

Necesitățile organismului uman în riboflavină se evaluează, de regulă, în funcție de necesitățile energetice, dar pot fi exprimate și în funcție de aportul proteic. Deoarece rezervele tisulare de riboflavină la adulți nu pot fi menținute între limite normale decît atunci cînd aportul de vitamină exogenă este de 0,5 mg/1000 Kcal, se consideră că necesarul minim de vitamină B_2 la adulți este de 0,5 mg/1000 Kcal/zi. În sarcină și în perioada alăptării, necesarul crește cu 0,3-0,6 mg/1000 Kcal.

La nou-născuți și sugari aportul recomandat se estimează la 0,4-0,6 mg/zi în primele două semestre. Deoarece nu au fost semnalate pînă acum efecte toxice de supradozare, nu există nici un risc în cazul depășirii dozelor recomandate.

III.2.8. Tulburări de aport vitaminic

De regulă, hipovitaminoza B_2 se întîlnește asociată cu alte hipovitaminoze și avitaminoze B.

La animalele tinere, hipovitaminoza riboflavinică determină încetarea creșterii, alopecie, dermatită. Alte simptome sînt conjunctivita și opacitatea corneei asociată cu ulcerarea ei. La om sînt caracteristice leziunile pielii, mucoa-

selor și ochilor. Se mai observă tulburări hematologice și gastrointestinale.

Există o disproporție uriașă între cunoștințele acumulate asupra rolului biochimic al riboflavinei și efectele clinice pe care le determină hipovitaminoza B_2 la om.

În experiențele pe animale de laborator cărora li s-au administrat antagoniști ai vitaminei B_2 cum ar fi galactoflavina, s-au observat efecte foarte apropiate de cele caracteristice maladiilor ereditare ce afectează activitatea acil-CoA-dehidrogenazelor. Principalele constatări experimentale și observații în hipo- și avitaminoza B_2 sînt:

a) Modificări morfologice ale țesutului hepatic. Hipovitaminoza B_2 determină o creștere în volum a ficatului și degenerescență grasă hepatică prin acumularea de trigliceride și glicogen. Mitocondriile hepatocitului sînt mult mai numeroase și cu volumul mărit.

b) Modificări ale activității flavoenzimelor.

În hipo- și avitaminoza B_2 se constată o discordanță netă între rata oxidării substratelor nelipidice care rămîne nemodificată un interval de timp destul de îndelungat de la debutul carenței, ceea ce indică faptul că lanțul respirator rămîne intact în primele săptămîni de carență și rata oxidării substratelor lipidice care scade brusc în primele zile ale unui regim sărac în riboflavină. Această scădere corespunde unei diminuări a nivelului enzimelor active și implicit unei acumulări de apoenzime. În schimb, nivelul FTE și al enzimelor FAD-independente implicate în oxidarea lipidelor (cum ar fi carnitin-acil-transferaza, enoil-CoA-hidrataza, β-hidroxiacil-CoA-dehidrogenaza, β-cetoacil-CoA-tiolaza) precum și enzimele β-oxidării peroxisomale rămîne constant sau crește ușor. Scade în același timp activitatea altor enzime hepatice FMN- și FAD-dependente (xantinoxidaza, succinat-dehidrogenaza, oxidaza acidului glicolic etc.).

În eritrocite, glutation-reductaza și NADH-methemoglobin-reductaza își diminuează foarte puțin activitatea. Adaosul de FAD într-un hemolizat eritrocitar provenit de la șobolani avitaminizați determină o creștere a activității glutation-reductazei de 2-3 ori, în timp ce această creștere este minoră dacă animalele au primit o hrană bogată în riboflavină.

La omul sănătos, administrarea de riboflavină în doze de ordinul a 5 mg/zi conduce la o creștere oarecare a activității glutation-reductazei eritrocitare începînd cu a doua zi de tratament. Această creștere este mult mai puternică dacă subiectul prezintă carență vitaminică. De aceea, determinarea activității glutation-reductazei eritrocitare stă la baza testului de evaluare *in vivo* a nivelului vitaminei B_2.

c) Aciduria

La animalele avitaminizate, se observă apariția în primele săptămîni a unei eliminări anormale pe cale renală de acizi organici, similară cu cea

observată în deficitul ereditar de acil-CoA-dehidrogenază. Aceștia rezultă fie prin acumularea de metaboliți intermediari formați în etapele anterioare acțiunii acil-CoA-dehidrogenazei care este deficitară, fie datorită degradării acestora pe căi metabolice secundare. Acestea constau, în principal, în reacții de carboxilare, ω-oxidare microsomială etc. și în procese de detoxifiere ce au loc preponderent prin conjugare cu glicina sau prin acilarea carnitinei. Aciduria este determinată de eliminarea acizilor adipic, sebacic, suberic, glutaric, etilmalonic etc. precum și a butiril-glicinei, izobutiril-glicinei, izovaleril-glicinei, octanoil-carnitinei etc.

d) Avitaminoza B_2 și teratogeneza

Se cunoaște faptul că avitaminoza B_2 la femei în perioada sarcinii determină producerea de malformații severe la făt. Nou-născuții prezintă multiple malformații scheletice cum ar fi diviziunea palatină, diminuarea oaselor lungi, micrognatie, fuziunea coastelor și degetelor etc. precum și hidrocefalie, leziuni oculare, malformații cardiace, hidronefroze și altele. Incidența acestor malformații este extrem de crescută, mai ales în administrarea de galactoflavină, un puternic antagonist al riboflavinei. Aceste constatări trebuie coroborate cu malformațiile din aciduria glutarică de tip II, afecțiune ereditară în care există un deficit generalizat al acil-CoA-dehidrogenazelor FAD-dependente. Aceste observații demonstrează odată în plus că dezvoltarea embrionară normală necesită, printre altele, prezența tuturor factorilor ce contribuie la integritatea proceselor metabolice mitocondriale și peroxisomale de utilizare a energiei.

III.2.9. Antivitamine B_2

Antagoniștii riboflavinei pot fi substanțe înrudite structural cu aceasta, însă există substanțe cu activitate antivitaminică cu structură chimică total diferită. Cei mai importanți antagoniști analogi structurali sînt dietilflavina, halogenflavinele și galactoflavina. Mecanismele de acțiune ale acestora au la bază competiția cu cofactorii unor flavoenzime cum ar fi xantinoxidaza și D-aminoacidoxidazele, inhibiția procesului de fosforilare a riboflavinei sau fosforilarea lor cînd se formează unii analogi ai FMN cu activitate biologică scăzută sau nulă. Aceste substanțe acționeaza ca antimetaboliți, cauzînd simptomele deficienței în riboflavină.

Cele mai importante substanțe cu acțiune antagonistă vitaminei B_2 și cu structură diferita de cea a riboflavinei, sînt unele substanțe antimalarice ca atebrina și chinina care inhibă competitiv enzimele flavinice, în special citocrom-reductaza și D-aminoacidoxidazele.

III.3. VITAMINA PP (NIACINA, NICOTINAMIDA, FACTORUL PELAGRO-PREVENTIV, VITAMINA B_5)

III.3.1 Generalități

Termenul generic de vitamină PP sau niacină desemnează acidul nicotinic, amida sa (nicotinamida) precum și toți derivații acestora ce pot fi transformați *in vivo* în compuși biologic activi. Importanța biologică a niacinei constă, în primul rînd, în faptul că ea reprezintă precursorul a doi cofactori implicați în majoritatea reacțiilor de oxido-reducere din organismul viu: NAD și NADP.

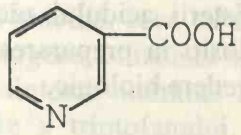
Lipsa niacinei din alimente determină apariția unei boli grave - pelagra - care este o dermatită particulară, de lungă durată, însoțită de diaree, pierderea memoriei, halucinații,iar în cazurile grave - demența. Această boală a căpătat forme endemice în perioada 1929-1930 cînd, din cauza crizei economice, populația săracă din sudul SUA, din Italia, Spania, țările balcanice și altele, folosea drept aliment de bază mălaiul. În țara noastră, această epidemie a cuprins în acea perioadă populația din Moldova, unul din polii sărăciei din România acelor ani.

Prima descriere a pelagrei a fost făcută încă la sfîrșitul secolului XVIII, dar recunoașterea acestei boli ca boală carențială a fost făcută abia în perioada 1912-1915, cînd Goldenberg arată că pelagra poate fi prevenită printr-o alimentație adecvată. În aceeași perioadă, în încercările sale de purificare a factorului antiberi-beri, Funk reușește să izoleze acidul nicotinic. Trebuie remarcat faptul că acidul nicotinic a fost sintetizat pe cale chimică încă în 1867 de către Ruber, fără însă a i se cunoaște rolul biologic. Nici Funk nu face nici o legătură între acidul nicotinic și pelagră, dar arată efectul pozitiv al "vitaminei B" în tratarea acesteia.

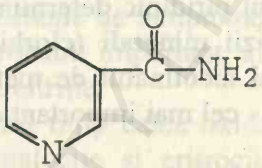
Numărul imens de victime ale pelagrei a determinat guvernele multor state să aloce fonduri însemnate în cercetarea etiologiei, profilaxiei și tratamentului pelagrei. Asfel, în 1916, serviciile medicale americane, convinse de narura nutritivă a pelagrei, recomandă adăugarea în rația alimentară a laptelui și ouălor. Ulterior s-a demonstrat că același efect pozitiv îl determină și ficatul,germenii de grîu, drojdia de bere etc. După mai multe cercetări se izolează din ficat și drojdie un factor pelagro-preventiv (de unde și denumirea de vitamină PP) și se recunoaște efectul curativ al acidului nicotinic.

III.3.2. Stuctura chimică și proprietățile vitaminei PP

Acidul nicotinic și amida sa au fost cunoscute ca substanțe chimice cu mult înainte de a se cunoaște rolul lor biologic. Din punct de vedere stuctural sînt derivați ai piridinei:

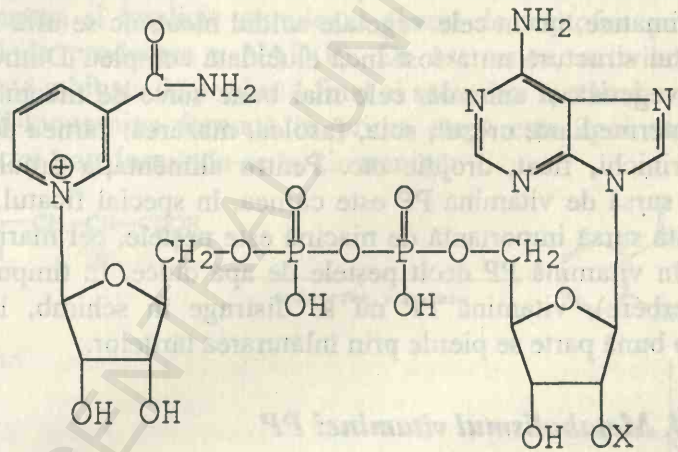


acid nicotinic



nicotinamida

În organismele vii, nicotinamida se găsește preponderent sub forma a două nucleotide piridinice: nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD) și nicotinamid-adenin-dinucleotid-fosfat (NADP):



X = H ⟶ NAD^+

X = PO_3H_2 ⟶ $NADP^+$

Nicotina liberă este o substanță cristalină, incoloră, ușor solubilă în apă, alcool metilic și alcool etilic și greu solubilă în benzen și eter. În condiții normale este cea mai stabilă dintre toate vitaminele. La încălzire în soluții apoase, în prezența glucozei formează complecși colorați în brun.

Acidul nicotinic este o substanță cristalină, solubilă în apă și alcooli la cald și insolubil în solvenți organici (acetonă, cloroform, eter etilic). Sărurile acidului nicotinic cu metale grele sînt insolubile, această proprietate stînd la baza separării lui din amestecuri. Este stabil față de temperatură și față de acțiunea agenților oxidanți. Prezența atomului de azot bazic în heterociclul piridinic determină capacitatea acidului nicotinic de a forma săruri cu acizii minerali (clorhidrați, nitrați etc.). Esterii acidului nicotinic (în special nicotinatul de metil și de etil) sînt folosiți la prepararea nicotinamidei - cel mai important derivat din punct de vedere biologic.

III.3.3. Stare naturală

Deși nu se acumulează în organismele vii, acidul nicotinic și amida sa sînt larg răspîndite în natură în cantități relativ mari, mai ales sub forma celor două coenzime piridin-nucleotidice, datorită importanței metabolice imense a acestora din urmă.

În țesuturile animale se întîlnește mai ales nicotinamida alături de formele coenzimatice, iar în cele vegetale acidul nicotinic se află într-o formă legată a cărui structură nu a fost încă elucidată complet. Dintre alimentele de origine vegetală și animală, cele mai bune surse de niacină sînt pîinea neagră și intermediară, orezul, soia, fasolea, mazărea, carnea de vacă, porc și pasăre, rinichi, ficat, drojdie etc. Pentru alimentația omului, cea mai importantă sursă de vitamină PP este carnea, în special ficatul, rinichiul și inima. O altă sursă importantă de niacină este peștele, cel marin fiind mult mai bogat în vitamină PP decît peștele de apă dulce. În timpul procesului culinar (fierbere), vitamina PP nu se distruge în schimb, la măcinatul cerealelor o bună parte se pierde prin înlăturarea tărîțelor.

III.3.4. Metabolismul vitaminei PP

III.3.4.1. Absorbția intestinală

Absorbția vitaminei PP a constituit obiectul a numeroase studii *in vivo* și *in vitro* pe intestin perfuzat de șobolan. Traversarea marginii în perie a enterocitului de către niacină se face rapid și este dependentă de sodiu. Procesul este inhibat de unii analogi structurali cum ar fi uabaina (inhibitor specific pentru Na^+, K^+-ATP-ază) sau de către scăderea concentrației sodiului care reduc semnificativ absorbția intestinală a vitaminei. Toatea acestea sugerează existența unui mecanism specific de absorbție.

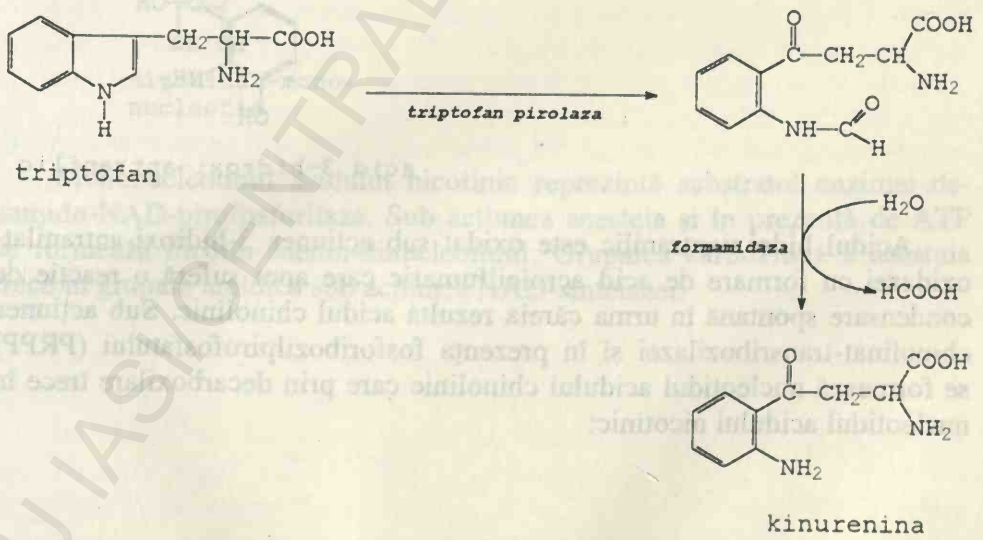
III.4.4.2. Biosinteza niacinei

Deși este o vitamină, niacina poate fi sintetizată într-o oarecare măsură în organismul omului și al altor mamifere prin utilizarea în calitate de precursor a triptofanului. Importanța acestei surse endogene este discutabilă. Cu toate acestea, bolile ereditare ale metabolismului triptofanului (de exemplu sindromul Hartnup) sînt însoțite întotdeauna de simptome ale carenței în niacină, ceea ce demonstrează rolul, probabil important, al biosintezei endogene a niacinei în unele situații de malnutriție.

Biosinteza vitaminei PP, care este în același timp calea oxidativă de degradare a triptofanului, se realizează în hepatocite și eritrocite, fiind absentă în creier. Este interesant faptul că în acest proces are loc biosinteza cofactorilor piridinici și nu a niacinei.

În prima etapă a procesului are loc oxidarea triptofanului sub acțiunea triptofan-pirolazei sau triptofan-oxigenazei cu formare de formil-kinurenină. Această enzimă conține nucleu porfirinic și are o viață scurtă ce poate fi prelungită în prezența substratului (triptofanul). Biosinteza triptofan-pirolazei se află sub control hormonal: corticosteroizii accelerează biosinteza enzimatică și implicit stimulează fluxul de triptofan pe această cale metabolică de producere a NAD(P). De asemenea, activitatea triptofan-pirolazei este inhibată de produsul final al secvenței metabolice date.

Formil-kinurenina formată în prima etapă este apoi supusă acțiunii formamidazei transformîndu-se în kinurenină:

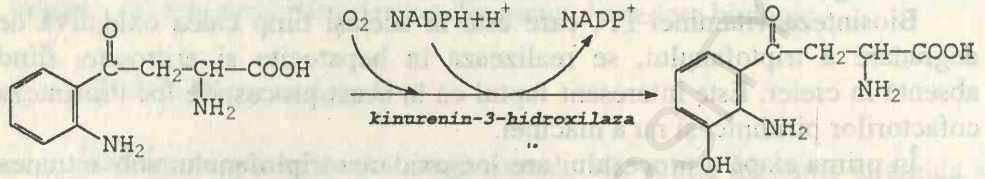


În etapa următoare, sub acțiunea kinurenin-3-hidroxilazei, care este o enzimă NADPH-dependentă, se formează 3-hidroxikinurenina ce suferă apoi o scindare hidrolitică sub acțiunea kinureninazei cînd este clivată ala-

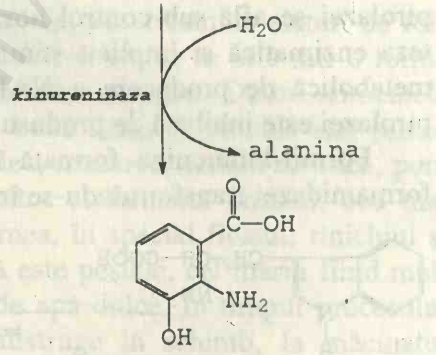
nina și se formează acidul 3-hidoxi-antranilic.

Kinurenina și hidroxikinurenina reprezintă puncte de intersecție metabolică în sensul că, în funcție de necesitățile organismului, secvența metabolică este dirijată fie în sensul formării niacinei fie că se formează acid kinurenic (din kinurenină) respectiv acid xanturenic (din hidroxikinurenină).

Formarea acidului kinurenic și xanturenic se observă și în unele boli ereditate ce interesează metabolismul triptofanului, cauza principală constînd, probabil, într-o anomalie a apoenzimei kinureninazei.



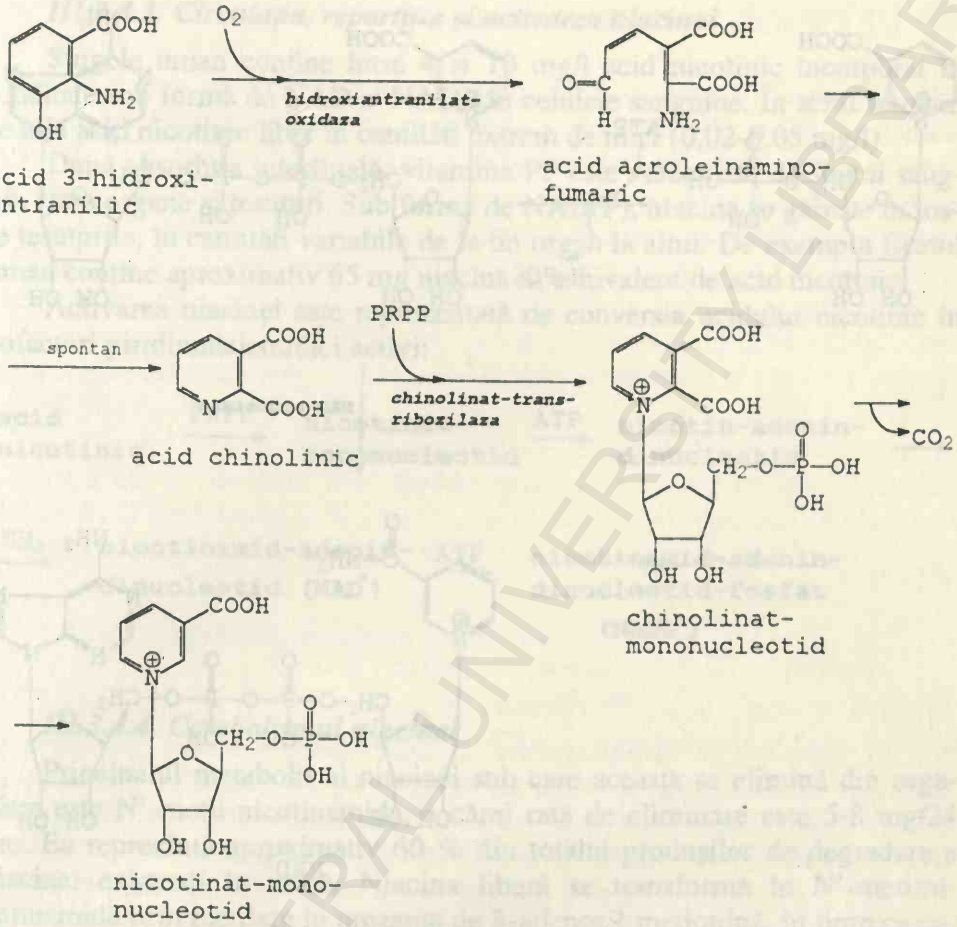
kinurenina 3-hidroxi-kinurenina



acid 3-hidroxi-antranilic

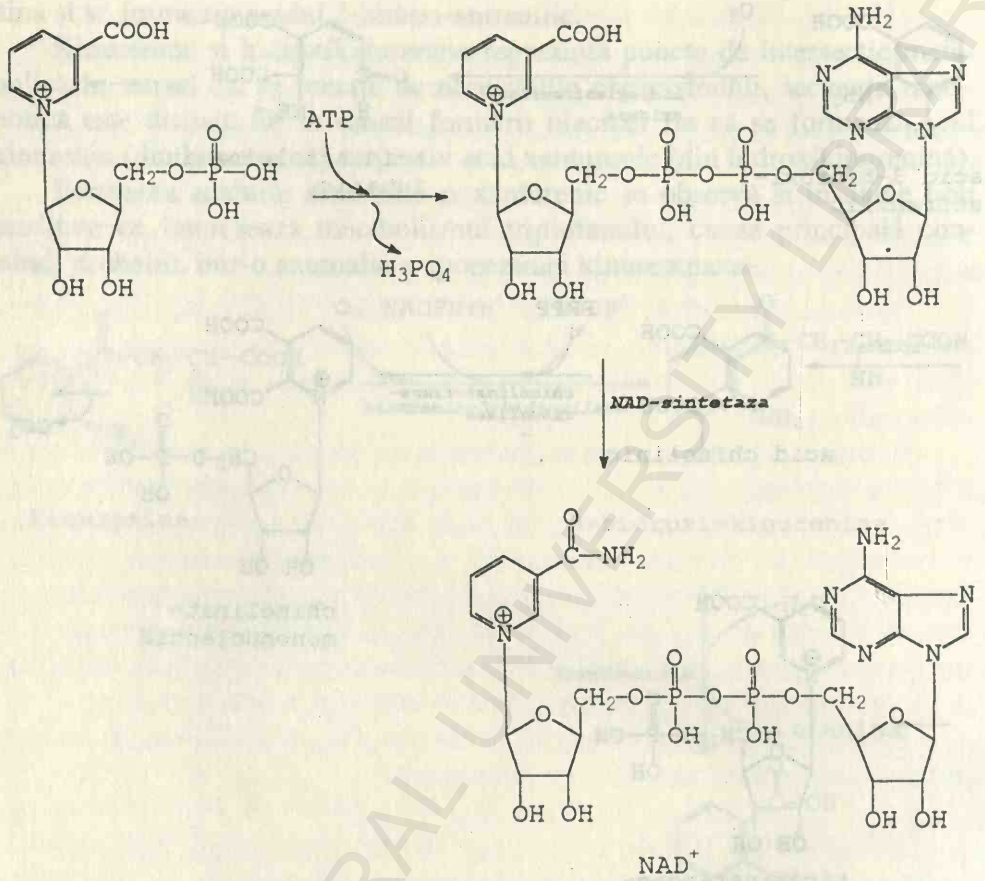
Acidul hidroxiantranilic este oxidat sub acțiunea 3-hidroxi-antranilat-oxidazei cu formare de acid acroleilfumaric care apoi suferă o reacție de condensare spontană în urma căreia rezultă acidul chinolinic. Sub acțiunea chinolinat-transribozilazei și în prezența fosforibozilpirofosfatului (PRPP) se formează nucleotidul acidului chinolinic care prin decarboxilare trece în nucleotidul acidului nicotinic:

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

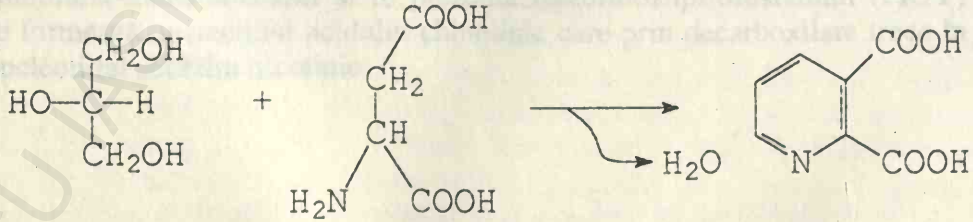


Mononucleotidul acidului nicotinic reprezintă substratul enzimei dezamido-NAD-pirofosforilaza. Sub acțiunea acesteia și în prezență de ATP se formează nicotin-adenin-dinucleotidul. Gruparea carboxilică a acestuia trece în grupare amidică sub acțiunea NAD-sintetazei:

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



Biosinteza NAD^+ mai poate avea loc și prin utilizarea nicotinamidei libere, provenită din alimente sau formată prin hidroliza NAD-ului preexistent. La plante și unele bacterii biosinteza NAD poate pleca de la acidul aspartic și glicerină care formează acidul chinolinic, restul secvenței biosintetice fiind cel descris mai sus:



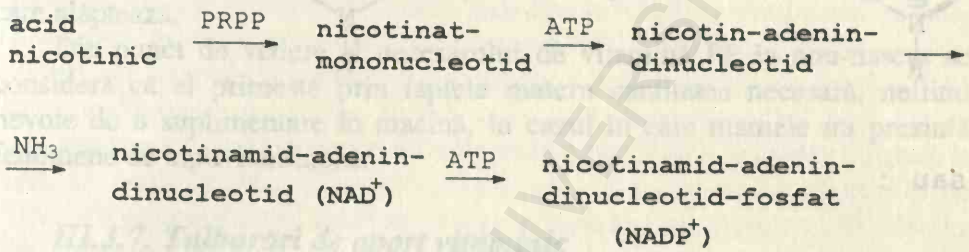
BCU INSTITUTIONAL UNIVERSITY LIBRARY

III.3.4.3. Circulația, repartiția și activarea niacinei

Sîngele uman conține între 4 și 10 mg/l acid nicotinic încorporat în totalitate sub formă de NAD și NADP în celulele sanguine. În serul sanguin se află acid nicotinic liber în cantități extrem de mici (0,02-0,05 mg/l).

După absorbția intestinală, vitamina PP este vehiculată de fluxul sanguin către organe și țesuturi. Sub formă de NAD(P), niacina se găsește în toate țesuturile, în cantități variabile de la un organ la altul. De exemplu ficatul uman conține aproximativ 65 mg niacină în echivalent de acid nicotinic.

Activarea niacinei este reprezentată de conversia acidului nicotinic în cofactori piridinnucleotidici activi:



III.3.4.4. Catabolismul niacinei

Principalul metabolit al niacinei sub care aceasta se elimină din organism este N'-metil-nicotinamida, a cărei rată de eliminare este 5-8 mg/24 ore. Ea reprezintă aproximativ 60 % din totalul produșilor de degradare a niacinei existenți în urină. Niacina liberă se transformă în N'-metilnicotinamidă prin metilare în prezență de S-adenozil-metionină, în timp ce catabolismul NAD și NADP începe prin hidroliza acestora sub acțiunea unor hidrolaze specifice cînd se formează ADP și nicotinamidă. Aceasta din urmă este apoi metilată în mod identic cu nicotinamida preexistentă.

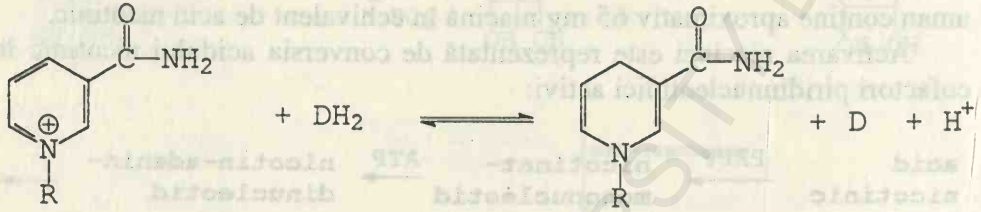
În vederea eliminării sale din organism, acidul nicotinic fie că se transformă mai întîi în nicotinamidă fie că se conjugă cu glicina pentru a se forma acidul nicotinuric care se elimină pe cale renală. O anumită parte din N'-metilnicotinamidă nu este eliminată imediat ci este supusă unui proces de oxidare în ficat cu formare de 4-piridon-carboxamidă.

În rinichi au loc două tipuri de fenomene care concură între ele: eliminarea N'-metil-nicotinamidei și reabsorbția niacinei.

Principalul catabolit al niacinei, N'-metil-nicotinamida, este eliminat printr-un mecanism de excreție tubulară activă mediată de un transportor specific, fără posibilitatea reabsorbției. Pe de altă parte, în rinichi există un sistem specific de reabsorbție a niacinei, ce poate fi inhibat de analogii structurali ai acesteia și este Na^+-dependentă.

III.3.5. Rolul biologic al niacinei

Activarea niacinei conduce la cele două coenzime cu structură nucleotidică - NAD și NADP, a căror participare în sistemele de oxido-reducere constituie principala funcție biologică a vitaminei PP. NAD și NADP sînt implicați în marea majoritate a proceselor redox ce au loc în celula vie datorită capacității de oxidare reversibilă a nucleului piridinic:



sau :

$$NAD(P)^+ + S \rightleftharpoons NAD(P)H + P + H^+$$

În reacțiile de dehidrogenare a diferitelor substrate, un atom de hidrogen al donorului se leagă de atomul C_4 al nucleului piridinic, iar celălalt atom, cedînd electronul său în vederea neutralizării sarcinii pozitive a heterociclului, este eliminat în mediu sub formă de proton.

Din punctul de vedere al mecanismului de acțiune, precum și al modului de legare a NAD și NADP de apoenzimă, nu se poate spune că acești cofactori sînt coenzime propriu-zise deoarece nu se realizează legături covalente, puternice, între acești cofactori și apoenzimele lor. NAD și NADP pot fi considerați mai degrabă co-substrate ale enzimelor la care sînt asociați.

În principal, NAD-ul este localizat intramitocondrial unde reprezintă acceptorul de hidrogen în principalele reacții de dehidrogenare din glicoliză, lipoliză, ciclul acizilor tricarboxilici etc. NADH-ul astfel produs constituie donorul de electroni ce sînt transportați în catena respiratorie, în procesul de fosforilare oxidativă mitocondrială. În acest proces NADH este reoxidat, se regenerează ATP-ul, iar oxigenul se reduce cu formare de apă.

NADP este localizat în citoplasmă. Sub forma sa redusă, el reprezintă principalul donor de hidrogen în reacțiile de transhidrogenare din organism, de exemplu în biosinteza acizilor grași. După oxidarea în aceste reacții, $NADP^+$ trebuie să fie din nou redus. Această "reîncărcare" are loc în

principal în calea pentozo-fosfaților cînd calea Embden-Meyerhoff-Parnas este saturată.

III.3.6 Necesarul de vitamină PP

În urma observațiilor clinice efectuate de-a lungul timpului s-a stabilit că necesarul minim de niacină care împiedică apariția pelagrei este de aproximativ 4,4 mg/1000 Kcal. Pentru adulți la care aportul caloric este de pînă 2000 Kcal/zi se consideră optimă cantitatea de 9 mg niacină/zi Experții OMS recomandă un aport zilnic de 6,6 mg/1000 Kcal pentru adulți, cantitate ce trebuie majorată cu 2 mg la femeile însărcinate și cu 7 mg la cele care alăptează.

Din punct de vedere al necesarului de vitamină PP la nou-născut se consideră că el primește prin laptele matern cantitatea necesară, nefiind nevoie de o suplimentare în niacină, în cazul în care mamele nu prezintă fenomene de hipovitaminoză.

III.3.7. Tulburări de aport vitaminic

Tulburările ce apar în carența de vitamină PP au fost puse în evidență cu certitudine doar la cîine și om. La cîine, în avitaminoza PP apare boala numită "limbă neagră" sau pelagra canină. Simptomele acesteia cuprind leziuni ale pielii și mucoaselor, afecțiuni ale sistemului nervos central și periferic, degenerescență grasă hepatică etc. Vitaminoterapia conduce la dispariția acestor simptome.

Carența niacinică la om produce boala numită pelagră care debutează prin oboseală, pierderea poftei de mîncare, tulburări digestive, iar în timp se instalează așa- numita triadă a celor 3d: dermatită, diaree, demență. Simptomele clasice ale pelagrei sînt de trei tipuri: tulburări cutanate, digestive și neurologice.

1) Tulburările cutanate. În avitaminoza PP tulburările cutanate cuprind eriteme de culoare roșie, simetrice, ce apar pe extremități, pe față și, în general, pe toate zonele expuse la lumină. Mai apar edeme, inițial roșii, apoi descuamate, pigmentate în brun care devin rugoase, atrofice. Concomitent are loc o vasodilatație și o keratinizare a epidermei cu tendința de a se desprinde de dermă. Rănile și excoriațiile agravează aceste tulburări.

2) Tulburările digestive se manifestă ca inflamații cronice ale mucoasei digestive, stomatită, glosită, gastrită, diaree abundentă însoțită deseori de hemoragie.

3) Tulburările psihiatrice includ delirul, halucinațiile și confuziile. Spre deosebire de tulburările cutanate și digestive, cele neurologice sînt, de regulă, rezultatul unor carențe multiple și nu sînt cauzate doar de avitaminoza PP.

Hipovitaminoza PP este întîlnită mai des în țările în care mălaiul constituie alimentul de bază al populatiei, dat fiind faptul că proteinele din boabele de porumb au un conținut scăzut în triptofan. În aceste cazuri însă, etiologia pelagrei este mult mai complexă, ea reprezentînd rezultatul carenței simultane în triptofan, niacină și piridoxină, aceasta din urmă fiind un factor necesar conversiei triptofanului în niacină.

S-a constatat că în unele tumori carcinoide ale intestinului subțire, aproximativ 60 % din triptofan se transformă în serotonină din care cauză el nu mai poate servi drept precursor în biosinteza de niacină endogenă. Această boală cu incidență minoră cedează la tratamentul cu vitamină PP.

În fine, există și unele boli ereditare ce afectează metabolismul triptofanului cum ar fi sindromul Hartnup. Acestă boală este o maladie genetică rară, recesiv-autosomală, ce se caracterizează prin dermatite similare cu cele din pelagră, cu ataxie, înapoiere mintală și tulburări psihiatrice (delir). Boala este însoțită de o aminoacidurie masivă (de aproximativ 10 ori mai mare decît valoarea normală) ce interesează în principal aminoacizii monocarboxilici. Aceste simptome răspund favorabil la vitaminoterapia de lungă durată.

III.3.8. Antivitamine PP

Antivitaminele PP cele mai bine studiate sînt unii analogi structurali ai acidului nicotinic și nicotinamidei. Mecanismul de acțiune al acestora are la bază concurența dintre nicotinamidă și antivitaminele PP în structura NAD și NADP cînd se formează pseudocoenzime piridin-nucleotidice lipsite de activitate biologică. Cele mai importante antivitamine PP sînt 3-acetilpiridina, 6-amino-nicotinamida, acidul 5-fluornicotinic, tiadiazolul etc.

Hidrazina izonicotinică (HIN), utilizată în tratamentul tuberculozei (Rimifon) are, de asemenea, activitate antivitaminică PP. Mecanismul de acțiune al acesteia se bazează pe proprietatea de a forma un complex inactiv cu piridoxal-fosfatul, rezultînd un oarecare deficit de vitamină B_6. Una din consecințele acestei transformări o constituie blocarea procesului de biosinteză a nicotinamidei din triptofan prin inhibarea kinureninazei care este o enzimă piridoxalfosfat-dependentă. Apare în felul acesta un deficit de NAD(P) tisular dar și o activare a triptofan-oxigenazei care accentuează și mai mult acumularea de intermediari (kinunerină) precum și eliminarea pe cale renală a acizilor kinurenic și xanturenic și a derivaților lor.

Alte hidrazide, cum ar fi carbidopa, folosită în tatamentul bolii Parkinson, au o acțiune similară cu a HIN, dar mai puternică.

În asemenea situații, eliminarea prin urină a produșilor de degradare a niacinei este redusă. Subiecții respectivi fac parte din categoria de risc, necesitînd administrare de niacină în scop profilactic.

În cazul carenței grave în niacină se recomandă administrarea fracționată a unor doze de pînă la 300-500 mg/zi. Este interzisă însă administrarea intravenoasă a unor doze mai mari de 25 mg din cauza riscului de șoc anafilactic. Atît acidul nicotinic cît și nicotinamida determină o vasodilatație periferică de scurtă durată, în special în partea superioară a corpului. Administrat în doze mari (aproximativ 3 mg/zi) acidul nicotinic manifestă un efect hipocolesterolemiant prin inhibarea biosintezei lipidelor și în special al colesterolului. Mecanismul acestei acțiuni este însă incomplet elucidat. Este posibil să aibă loc o inhibiție a lipolizei mediată de cAMP în țesutul adipos.

Într-o serie de observații clinice efectuate pe 8000 de subiecți s-a constatat că acidul nicotinic poate fi considerat a fi un agent hipolipemiant la fel de eficace ca și clofibratul, el putînd reduce incidența infarctului miocardic. S-ar părea că este eficace în tratamentul hipercolesterolemiilor familiale.

În doze foarte mari (5 g/zi) niacina poate manifesta efecte hepatotoxice: creșterea activității transaminazelor, bilirubinemiei etc.

BCU IAȘI CENTRAL LIBRARY

III.4. ACIDUL PANTOTENIC (VITAMINA B_3) ȘI COENZIMA A

III.4.1. Generalități

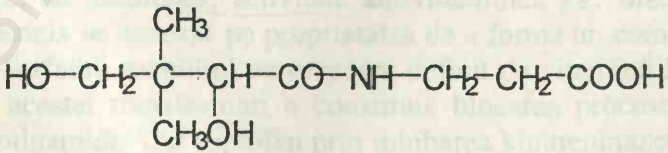
Pentru prima dată, acidul pantotenic a fost identificat în 1931 de către J.Williams în experiențele sale referitoare la factorii de creștere ai unor anumite specii levuriene. În același timp este descrisă o dermatită la bovine, asemănătoare cu cea din pelagră care nu cedează la niacină. Ulterior s-a stabilit că în ficatul de porc există un factor eficient în combaterea și prevenirea acestei dermatite la găini și bovine, dar nu și la șobolani, fiind numit "factor antidermatitic pentru găini".

Cercetări ulterioare au demonstrat că acest factor poate fi întîlnit în aproape toate celulele vii studiate din care cauză a primit numele de acid pantotenic (în limba greacă "panthoten" înseamnă "de peste tot"). În 1939-1940 s-a stabilit că atît "factorul antidermatitic" cît și acidul pantotenic în mediu alcalin se inactivează prin scindarea alaninei. În același timp este descifrată structura chimică și se realizează sinteza chimică a acidului pantotenic.

Identificarea în 1951 de către Lynen a coenzimei A a însemnat o contribuție extrem de importantă atît în studiul rolului biologic al acestei vitamine cît și în studiul metabolismului intermediar și al rolului central jucat de acetil CoA.

III.4.2. Stuctura chimică și proprietățile acidului pantotenic

Din punct de vedere structural, vitamina B_3 este acidul 3-(2,4-dihidroxi-3,3-dimetilbutiramido)-propionic:



După cum rezultă din formula chimică, molecula acidului pantotenic este formată dintr-un rest de acid pantoic și un rest de β-alanină legate între

ele printr-o legătură amidică. În organismele animale, vitamina B_3 se întîlnește și sub formă de pantotenol, în care gruparea carboxilică a restului de β-alanină este înlocuită cu o grupare hidroximetil ($-CH_2-OH$).

Acidul pantotenic este o substanță uleioasă, higroscopică, optic activă. Ametecul racemic are aceleași proprietăți fizico-chimice și același grad de stabilitate ca și forma naturală care este izomerul dextrogir, singurul ce prezintă activitate biologică. Este ușor solubil în apă și acid acetic, puțin solubil în alcooli și insolubil în solvenți organici de tipul benzenului, tetraclorurii de carbon sau cloroformului.

În mediu slab acid (pH = 5,5-7,0) acidul pantotenic este stabil, dar în mediu alcalin și acid, precum și la încălzire este instabil. Sarea de calciu a acidului pantotenic este o substanță cristalină, de culoare albă, solubilă în apă, glicerină și acid acetic glacial și insolubilă în benzen și cloroform. Pantotenolul, care este provitamina acidului pantotenic, este o substanță uleioasă (izomerul dextrogir) sau cristalină (amestecul racemic), foarte solubilă în apă și glicerină. În soluție apoasă prezintă o stabilitate mai mare decît acidul pantotenic și sarea sa de calciu.

III.4.3. Stare naturală

Acidul pantotenic este extrem de răspîndit în natură, fie sub formă liberă, fie sub forma sa activă de coenzimă A. Extrem de bogată în acid pantotenic este drojdia de bere (200 μg/g). Dintre alimentele de origine animală, cele mai bune surse de acid pantotenic sînt organele în care metabolismul este extrem de intens: ficatul de vită (75 μg/g), ficatul de oaie și porc (apro-ximativ 50 μg/g), rinichii (30-50 μg/g), gălbenușul de ou (55 μg/g), carnea de porc (aproximativ 10 μg/g) etc. Alimentele de origine vegetală cu conținut ridicat în acid pantotenic sînt: pîinea neagră (14 μg/g), conopida (10 μg/g), ciupercile (17 μg/g), spanacul (25 μg/g), roșiile (3,5 μg/g).

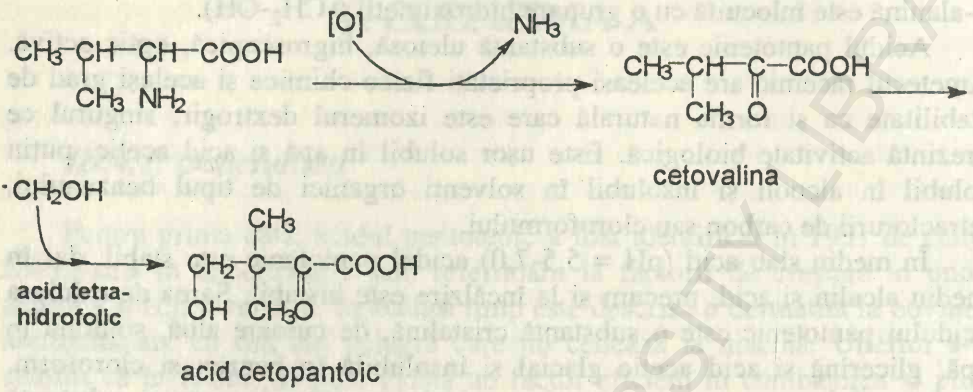
III.4.4. Metabolismul acidului pantotenic

III.4.4.1. Biosinteza acidului pantotenic

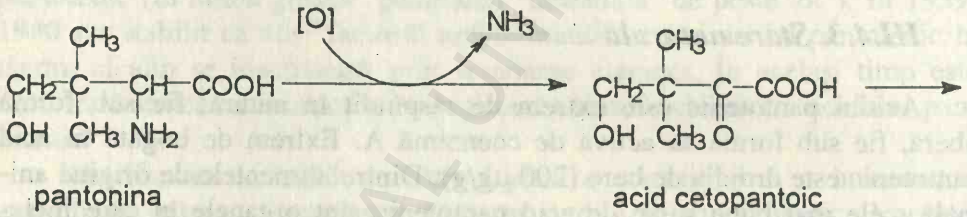
Pentru om și majoritatea animalelor acidul pantotenic este esențial. Această vitamină poate fi însă sintetizată de unele microorganisme cum ar fi unele specii aparținînd genurilor *Corynebacterium, Acetobacter, Clostridium*, etc.

Biosinteza acidului pantotenic utilizează în calitate de precursori valina și cetovalina pentru formarea acidului pantoic, iar acidul aspartic, semial-

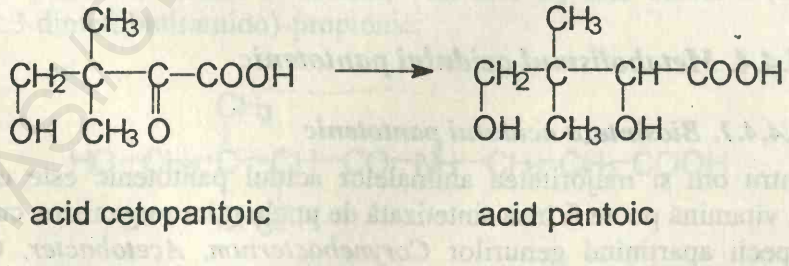
dehida malonică și/sau uracilul reprezintă precursorii β-alaninei:



S-a demonstrat că acidul pantoic poate fi sintetizat și din pantonină. Ackermann evidențiază această transformare la unele bacterii:

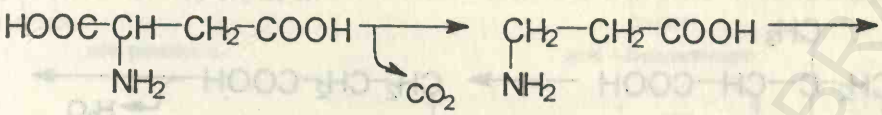


Indiferent de precursorul utilizat, acidul cetopantoic este redus cu formare de acid pantoic. În celulele bacteriene a fost identificată enzima specifică ce catalizează această transformare, dar nu este cunoscută natură coenzimei:

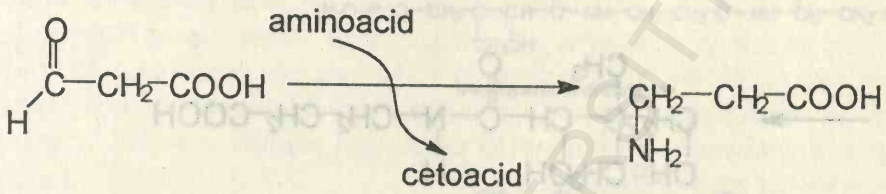


În ceea ce privește biosinteza β-alaninei, se cunosc mai multe căi metabolice, cele mai probabile folosind acidul aspartic, acidul formil-acetic sau β-ureido-propionatul în calitate de precursor:

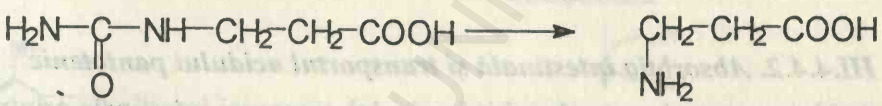
BUCHAREST CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY



sau :



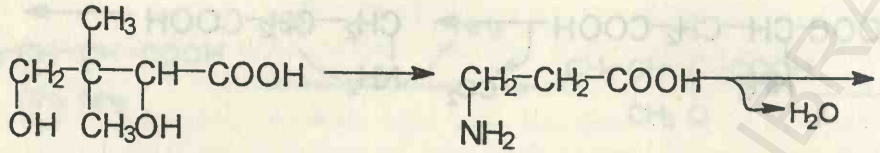
și în fine:



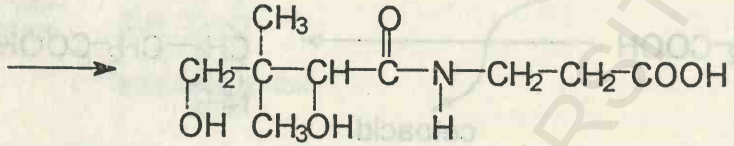
β-ureido-propionat β-alanina

Acidul aspartic este convertit în β-alanină de către aspartat-decarboxilază, o enzimă piridoxal-5-fosfat-dependentă. Roberts arată că în organismele animale există o aminotransferază ce catalizează reacția de transaminare dintre acidul glutamic și semialdehida malonică, cu formare de β-alanină. La rîndul ei, semialdehida malonică poate fi sintetizată din acid propionic. La unele specii de *Clostridium* a fost pusă în evidență o cale de biosinteză a β-alaninei din uracil, fiind izolați dihidrouracilul și ureidopropionatul ca intermediari ai acestei secvențe. Tot la *Clostridium* a fost descoperită o enzimă capabilă să convertească propionil-CoA în β-alanină prin intermediul acrilil-CoA. Acest intermediar este important și pentru biosinteza carnozinei și a serinei.

Etapa finală a biosintezei acidului pantotenic o constituie condensarea acidului pantoic cu β-alanina, în prezență de ATP:



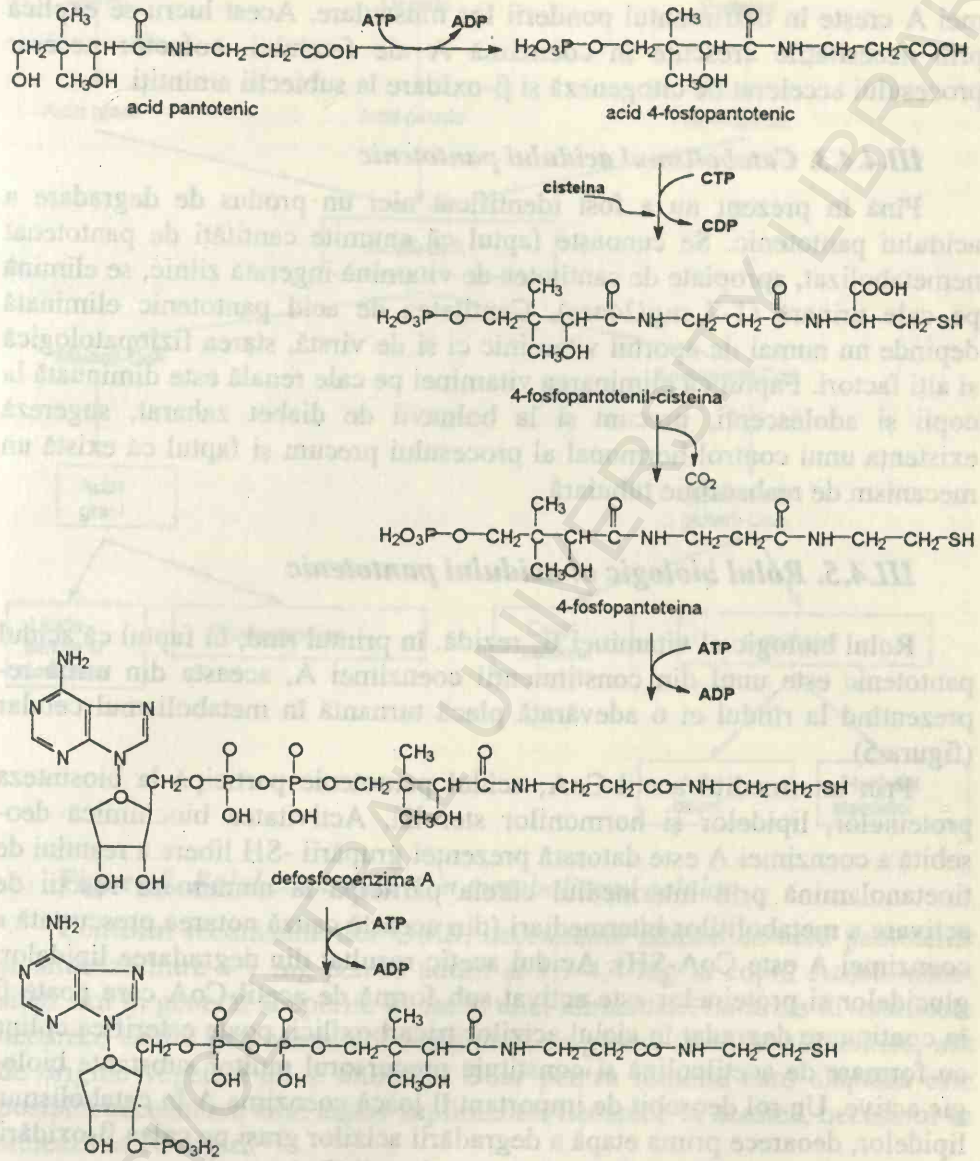
acid pantoic β-alanina



acid pantotenic

III.4.4.2. Absorbția intestinală și transportul acidului pantotenic

Acidul pantotenic este absorbit la nivelul mucoasei intestinale printr-un mecanism complex de transport transmembranar. În experimente cu ^{14}C-pantotenat s-a demonstrat că acest transport este foarte rapid, dependent de energia moleculelor de ATP și specific. Concentrația sanguină a acidului pantotenic liber este de ordinul a 1 μg/ml, deoarece în cea mai mare parte acidul pantotenic se activează sub formă de coenzimă A. Datorită importanței biochimice a acestui cofactor, studiul concentrației serice a acidului pantotenic prezintă un interes mai mic în comparație cu distribuția coenzimei A în țesuturi. Procesul de biosinteză al coenzimei A a fost elucidat inițial prin studii efectuate pe specii ale genurilor *Proteus, Neurospora,* etc. Într-o primă fază are loc o activare a acidului pantotenic în prezența ATP-ului cînd se formează acidul 4-fosfopantotenic. Acesta se condensează apoi cu cisteina utilizînd energia din moleculele de CTP și formează 4-fosfopantotenil-cisteina. Prin decarboxilarea ulterioară a acestuia ia naștere 4-fosfopanteteina care reacționează cu o nouă moleculă de ATP printr-un mecanism similar cu cel întîlnit în biosinteza altor coenzime nucleotidice. În urma acestei reacții de condensare se formează defosfo-CoA și pirofosfat. În ultima etapă, sub acțiunea unei kinaze specifice, defosfo-CoA trece în coenzima A:



CoA—SH

În ceea ce privește transportul acidului pantotenic și coenzimei A nu s-a pus în evidență pînă în prezent existența vreunei proteine de transport specifice. Rezervele de pantotenat și coenzimă A evoluează paralel și variază foarte mult de la un țesut la altul, fiind dependente și de starea nutrițională. Astfel, concentrația acidului pantotenic în ficat este de ordinul a 10^{-8} M adică de aproximativ 10 ori mai mică decît în mușchi. La copii și adolescenți, precum și la diabetici, ponderea hepatică a vitaminei și coenzi-

mei A creşte în detrimentul ponderii lor musculare. Acest lucru se explică prin necesităţile crescute în coenzimă A ale ficatului, cofactor necesar procesului accelerat de citogeneză şi β-oxidare la subiecţii amintiţi.

III.4.4.3. Catabolismul acidului pantotenic

Pînă în prezent nu a fost identificat nici un produs de degradare a acidului pantotenic. Se cunoaşte faptul că anumite cantităţi de pantotenat nemetabolizat, apropiate de cantitatea de vitamină ingerată zilnic, se elimină pe cale urinară (1-7 mg/24ore). Cantitatea de acid pantotenic eliminată depinde nu numai de aportul vitaminic ci şi de vîrstă, starea fiziopatologică şi alţi factori. Faptul că eliminarea vitaminei pe cale renală este diminuată la copii şi adolescenţi, precum şi la bolnavii de diabet zaharat, sugerează existenţa unui control hormonal al procesului precum şi faptul că există un mecanism de reabsorbţie tubulară.

III.4.5. Rolul biologic al acidului pantotenic

Rolul biologic al vitaminei B_3 rezidă, în primul rînd, în faptul că acidul pantotenic este unul din constituienţii coenzimei A, aceasta din urmă reprezentînd la rîndul ei o adevărată placă turnantă în metabolismul celular (figura 5).

Prin intermediul acetil-CoA, acidul pantotenic participă la biosinteza proteinelor, lipidelor şi hormonilor steroizi. Activitatea biochimică deosebită a coenzimei A este datorată prezenţei grupării -SH libere a restului de tioetanolamină prin intermediul căreia participă la numeroase reacţii de activare a metaboliţilor intermediari (din această cauză notarea prescurtată a coenzimei A este CoA-SH). Acidul acetic rezultat din degradarea lipidelor, glucidelor şi proteinelor este activat sub formă de acetil-CoA care poate fi în continuare degradat în ciclul acizilor tricarboxilici, poate esterifica colina cu formare de acetilcolină şi constituie precursorul multor substanţe biologic active. Un rol deosebit de important îl joacă coenzima A în catabolismul lipidelor, deoarece prima etapă a degradării acizilor graşi pe calea β-oxidării o constituie activarea acestora sub formă de acil-CoA.

III.4.6. Necesarul de acid pantotenic

Determinarea necesarului de acid pantotenic exogen este greu de stabilit dat fiind faptul că o parte din necesităţile zilnice de pantotenat este asigurată de vitamina sintetizată de flora intestinală.

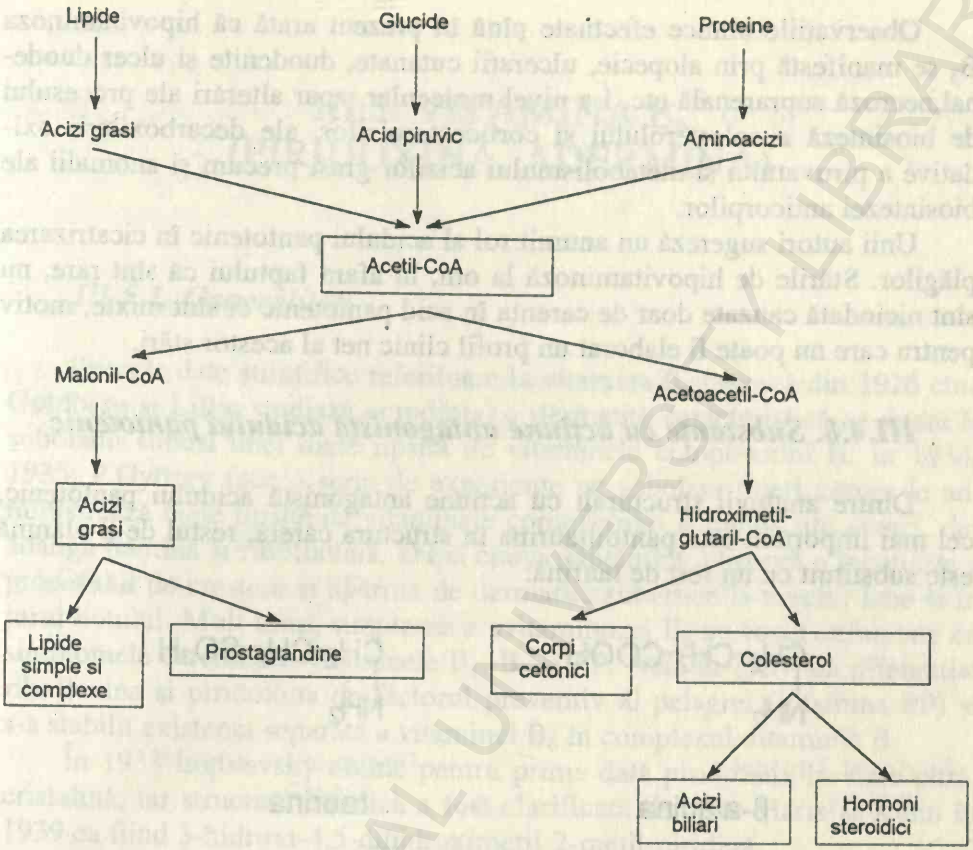


Figura 5. *Rolul coenzimei A în metabolismul celular*

Conform recomandărilor OMS, necesitățile zilnice de acid pantotenic se situează între 4-7 mg pentru adulți și 1,7-4,7 mg la copii. Aceste necesități sînt în general acoperite în cazul unei alimentații naturale diversificate deoarece acidul pantotenic și coenzima A se găsesc în toate alimentele, atît de origine vegetelă cît și animală. Doar pentru femeile care alăpteză este posibilă necesitatea unui adaos suplimentar deoarece la acestea, necesarul se situează la 10 mg/zi.

III.4.7. Tulburări de aport vitaminic

Dat fiind faptul că majoritatea alimentelor consumate de om au un conținut suficient de mare în acid pantotenic și coenzimă A, stările de carență vitaminică au o incidență foarte scăzută. Stările de hipovitaminoză pot interveni, de aceea, în malnutriție și în alterarea capacității de absorbție intestinală.

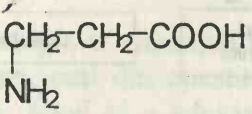
BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Observațiile clinice efectuate pînă în prezent arată că hipovitaminoza B_3 se manifestă prin alopecie, ulcerații cutanate, duodenite și ulcer duodenal,necroză suprarenală etc. La nivel molecular, apar alterări ale procesului de biosinteză a colesterolului și corticosteroizilor, ale decarboxilării oxidative a piruvatului și metabolismului acizilor grași precum și anomalii ale biosintezei anticorpilor.

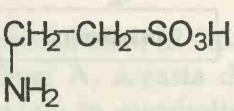
Unii autori sugerează un anumit rol al acidului pantotenic în cicatrizarea plăgilor. Stările de hipovitaminoză la om, în afara faptului că sînt rare, nu sînt niciodată cauzate doar de carența în acid pantotenic ci sînt mixte, motiv pentru care nu poate fi elaborat un profil clinic net al acestor stări.

III.4.8. Substanțe cu acțiune antagonistă acidului pantotenic

Dintre analogii structurali cu acțiune antagonistă acidului pantotenic, cel mai important este pantoiltaurina în structura căreia, restul de β-alanină este substituit cu un rest de taurină:



β-alanina



taurina

Pantoiltaurina este utilizată în practica medicală pentru combaterea unor paraziți care necesită acid pantotenic pentru creșterea lor. Derivații metoxilați ai taurinei au, de asemenea, acțiune antagonistă acidului pantotenic.

III.5. VITAMINA B_6 (PIRIDOXINA, ADERMINA)

III.5.1. Generalități

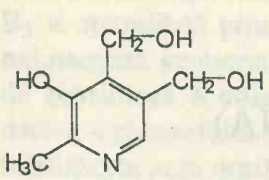
Primele date științifice referitoare la vitamina B_6 datează din 1926 cînd Goldberg și Lillie studiază acrodinia, o dermatită caracteristică ce apare la șobolanii supuși unei diete lipsită de vitaminele complexului B. În 1934-1935, P.György face o serie de experiențe pe șobolani tineri cărora le administrează diete lipsite de vitaminele complexului B cunoscute atunci, dar adaugă tiamină și riboflavină. După cîteva săptămîni, observă o încetinire a procesului de creștere și apariția de dermatite simetrice la urechi, labe și în jurul botului. Mult timp, simptomele avitaminozei B_6 au fost confundate cu simptomele carenței în vitaminele B_1, B_2 și PP. Abia în 1937 s-a diferențiat riboflavina și piridoxina de factorul preventiv al pelagrei (vitamina PP) și s-a stabilit existența separată a vitaminei B_6 în complexul vitaminic B.

În 1938 Lepkovsky obține pentru prima dată piridoxina în stare pură, cristalină, iar structura chimică a fost clarificată de către Haris și Kuhn în 1939 ca fiind 3-hidroxi-4,5-dihidroximetil-2-metil-piridină.

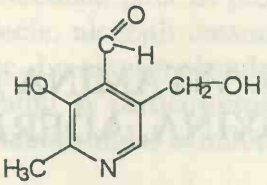
Denumirea de piridoxină pentru vitamina B_6 a fost dată în 1939 de către György, iar în perioada 1942-1944 se demonstrează existența a trei forme diferite structural ale vitaminei B_6 și anume piridoxina, piridoxalul și piridoxamina.

III.5.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei B_6

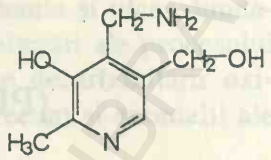
Prima formă a vitaminei B_6 care a fost studiată din punct de vedere al structurii chimice a fost substanța cu structura 4,5-di(hidroximetil)-3-hidroxi-2-metilpiridină denumită inițial piridoxină, apoi piridoxol. După descoperirea celorlalte forme structurale, IUPAC propune denumirea de piridoxină ca nume generic pentru toți derivații naturali ai piridinei care prezintă activitate vitaminică B_6, adică piridoxolul, piridoxalul și piridoxamina:



Piridoxol

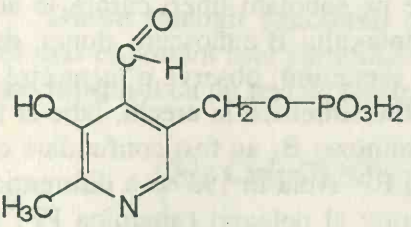


Piridoxal

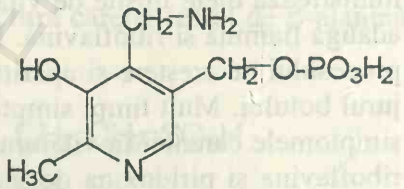


Piridoxamina

În calitate de cofactori, funcționează esterii fosforici ai piridoxalului și piridoxaminei, adică piridoxal-5-fosfatul și respectiv piridoxamin-5-fosfatul:



Piridoxal-5-fosfat
(PALP)



Piridoxamin-5-fosfat
(PAMP)

Piridoxolul este o substanță cristalină, incoloră, care sublimează în vid, fără miros și gust acru. Este instabilă la lumină, mai ales la acțiunea razelor ultraviolete. Se dizolvă ușor în apă și alcool, este puțin solubilă în acetonă și total insolubilă în cloroform, benzen și eter etilic. În soluții neutre și alcaline se descompune rapid în timp ce soluțiile acide nu o modifică.

Ca și piridoxolul, piridoxalul se purifică sub forma clorhidratului său sub formă de cristale incolore. Este, de asemenea, ușor solubil în apă și alcool, iar soluțiile sînt instabile chiar și în mediu acid.

Clorhidratul de piridoxamină este un compus cristalin, incolor, foarte higroscopic, ușor solubil în apă și greu solubil în alcool. Este forma cea mai fotosensibilă a vitaminei B_6. Soluțiile sale pot fi însă păstrate în fiole închise la culoare timp îndelungat.

III.5.3. Stare naturală

Ca toate vitaminele complexului B, vitamina B_6 se găsește în cantități mari în drojdia de bere. Cantități apreciabile de piridoxină se găsesc în mul-

te alimente de origine animală si vegetală, cele mai bune surse vitaminice pentru om fiind peștele, rinichiul și ficatul de porc, carnea de porc slabă, gălbenușul de ou, brînzeturile, vinul, laptele etc. Ca și în cazul celorlalte vitamine din grupa B, cantități foarte mari de piridoxină se găsesc în lăptișorul de matcă (aproximativ 5000 μg/g spre deosebire de 0,04-0,30 μg/g în mierea de albine). Dintre alimentele de origine vegetală, cele mai bune surse de vitamină B_6 sînt făina integrală de grîu, legumele proaspete, fructele etc.

III.5.4. Sinteza chimică a vitaminei B_6

De-a lungul timpului au fost puse la punct mai multe metode de sinteză chimică a piridoxinei. Inițial, sinteza se realiza prin condensarea cianoacetamidei cu α-acetil-α'-etoxiacetona. O altă metodă utilizează ca materie primă acidul 3-metoxi-2-metil-piridil-4,5-dicarboxilic.

În 1952 Cohen propune o metodă de sinteză chimică a piridoxinei folosind ca materii prime aceleași substanțe care reprezintă precursorii în căile de biosinteză a vitaminei B_6 adică alanina, formaldehida și acidul succinic.

III.5.5. Metabolismul vitaminei B6

III.5.5.1. Biosinteza vitaminei B_6

Marea majoritate a microorganismelor sînt capabile să sintetizeze piridoxina. Cu toate acestea, secvențele metabolice prin care această vitamină se sintetizează *in vivo* nu sînt complet elucidate. S-a constatat că celulele de *E. coli*, care necesită piridoxalul în calitate de factor de creștere, pot sintetiza acest compus dacă mediul de cultură conține serină, glicocol și glicolaldehidă.

La *Candida albicans* biosinteza piridoxalului este stimulată dacă mediul de cultură este îmbogățit cu acid glutamic și aspartic. S-a mai demonstrat că toți acizii din ciclul Krebs, în special acizii malic și citric, stimulează în egală măsură biosinteza piridoxalului.

Conversia piridoxalului în forma coenzimatică activă de piridoxal-5-fosfat are loc în prezența ATP-ului, care furnizează atît radicalul ortofosfat cît și energia necesară fosforilării sub acțiunea piridoxal-kinazei. S-ar părea că țesutul nervos, în special celulele din creier, au un conținut mare de piridoxal-kinază. Spre deosebire de alte kinaze, ea este activată de ionii de zinc și nu de ionii de magneziu sau mangan. În același timp, piridoxal-kinaza este puternic inhibată de unii derivați de hidrazină și în special de hidrazida acidului izonicotinic.

III.5.5.2. Absorbția intestinală a vitaminei B_6

Piridoxina este absorbită la nivelul jejunului prin difuzie directă. În urma administării pe cale orală a vitaminei B_6 la om și animale de experiență, precum și în urma unor cercetări *in vivo* s-a stabilit că absorbția intestinală a piridoxinei este un proces lent, viteza de difuzie depinzînd de concentrația vitaminei în lumenul intestinal. Acest proces nu este inhibat de analogii structurali de tipul 4-deoxipiridoxinei, de uabaină sau în anoxie și nu este dependent de sodiu. Toate acestea indică existența unui sistem de transport pasiv al piridoxinei.

În enterocite are loc fosforilarea piridoxinei, viteza de reacție depinzînd de concentrația vitaminei. Această fosforilare este însoțită de o diminuare a absorbției intestinale, dar rolul mecanismelor de fosforilare în transportul intraenterocitar al piridoxinei rămîne deocamdată neclar. Absorbția piridoxal-fosfatului și a piridoxaminei a constituit, de asmenea, obiectul a numeroase studii *in vitro*. Se cunoaște că piridoxal-fosfatul este absorbit la nivelul zonei proximale a ileonului, fără a avea loc o hidroliză prealabilă a acestuia, printr-un mecanism mult mai rapid comparativ cu difuzia piridoxinei.

Unele cercetări par să ateste însă, că alături de transportul pasiv al vitaminei B_6 prin difuzie, ar putea exista și un mecanism de transport specific, capabil să acumuleze piridoxina în enterocite în concentrații superioare celor din lumenul intestinal. Aceste presupuneri sînt deja parțial verificate de multiple observații clinice.

III.5.5.3. Circulația și repartiția în țesuturi

După absorbția la nivelul enterocitelor, toate formele vitaminei B_6 sînt vehiculate prin circulația entero-hepatică spre ficat, acesta fiind organul cel mai bogat în vitamină B_6 (aproximativ 6-8 μg/g pentru piridoxal și derivații săi și respectiv 2,5 μg/g pentru piridoxamină și derivați). În sînge, concentrția constituienților vitaminei B_6 se stabilizează în jurul valorii de numai 115 mM, repartiția fiind însă extrem de neuniformă între constituienții de bază: 50-55 % piridoxal-fosfat, 22-27 % piridoxină, 8-11 % piridoxal și respectiv 3-5 % piridoxamină. S-a demonstrat că piridoxal-fosfatul circulă sub forma unor complecși vitamino-proteici, legîndu-se în principal de serumalbumine, fapt ce-l protejează de acțiunea hidrolitică a fosfomonoesterazelor alcaline. Acești complecși vitamino-proteici sînt sintetizați în ficat, piridoxal-fosfatul părăsind hepatocitul sub această formă.

Vitamina B_6 sanguină este repartizată în doua compartimente diferite: compartimentul plasmatic și compartimentul globular care este de doua ori mai bogat decît primul. Penetrarea membranei eritrocitare de către vitamina

B_6 se realizează prin difuzie pasivă fără a fi vorba de un sistem de transport specific. În pofida inexistenței unui astfel de sistem de transport specializat, se realizează o acumulare intraeritrocitară a vitaminei datorată, în primul rînd, fenomenelor de fosforilare, dar și faptului că aceasta formează complecși cu unele proteine intraglobulare, probabil hemoglobina.

În sînge există deci două rezerve de vitamină B_6: o rezervă plasmatică sub forma complecșilor cu albumina și o rezervă globulară probabil sub forma unor complecși cu hemoglobina. Forma plasmatică este cea care pune la dispoziția diferitelor țesuturi necesarul de vitamină B_6. Pentru aceasta, la nivelul țesutului respectiv, piridoxalul este eliberat sub acțiunea unei fosfataze specifice, penetrează membrana celulară și este refosforilat în citosol. Turnover-ul vitaminei B_6 este relativ scăzut, doar 2-4 % din rezerve reînnoindu-se zilnic.

III.5.5.4. Activarea vitaminei B_6 sub formă de piridoxal-fosfat

Transformarea vitaminei B_6 prin fosforilare are o importanță deosebită dat fiind rolul de coenzimă al piridoxal fosfatului. Această conversie se realizează sub acțiunea unei enzime specifice, piridoxal-kinaza, prezentă în toate celulele organismului, în două moduri (figura 6) a) conversia piridoxaminei în piridoxal sub actiunea piridoxin-oxidazei urmată de o fosforilare în prezența piridoxal-kinazei și b) transformarea piridoxinei în fosfat de piridoxină urmată de deshidratare sub acțiunea unei oxidaze specifice - piridoxin-fosfat-oxidaza. Conversia piridoxaminei în coenzimă are loc sub acțiunea succesivă a unei kinaze specifice, respectiv a unei oxidaze similară cu cea care oxidează fosfatul de piridoxină.

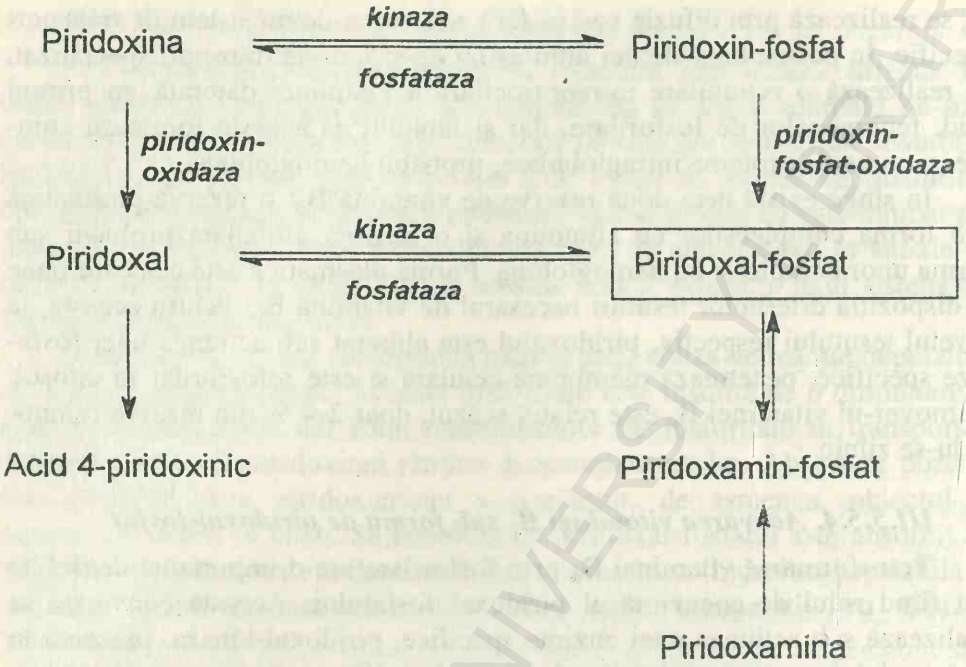


Figura 6. *Activitatea vitaminei B_6*

III.5.5.5. Catabolismul și eliminarea vitaminei B_6

Aproximativ 50 % din cantitatea de vitamină B_6 ingerată zilnic se elimină pe cale urinară sub formă de acid 4-piridoxinic (0,5-1,3 mg/zi) în timp ce eliminarea vitaminei propriu-zise se face în cantități foarte mici. S-au mai identificat în cantități mici și alți metaboliți ai vitaminei B_6. Înainte de oxidarea în acid 4-piridoxinic, piridoxina și piridoxamina sînt convertite în prealabil în piridoxal care, sub acțiunea unei aldehid-oxidaze specifice, trece în acid 4-piridoxinic.

Nu se elimină prin urină piridoxal-fosfatul deoarece forma coenzimatică a vitaminei B_6 nu este ultrafiltrabilă. Se presupune că în cazul în care acesta se găsește în urină sub formă de urme el provine din țesutul renal și nu din rezervele serice de piridoxal-fosfat.

III.5.6. Rolul biologic al vitaminei B_6

Principalul rol biologic al vitaminei B_6 este acela de coenzimă, sub formă de piridoxal-fosfat, formă sub care intervine în toate transformările neoxidative ale aminoacizilor: transaminare, decarboxilare, racemizare, α,β-eliminări și altele.

Transformările metabolice neoxidative ale aminoacizilor în prezența piridoxal-fosfatului în calitate de coenzimă se realizează datorită posibilității formării cu ușurință a complecșilor enzimă-substrat prin formarea de baze Schiff între aminoacizi și coenzimă (piridoxal-fosfat):

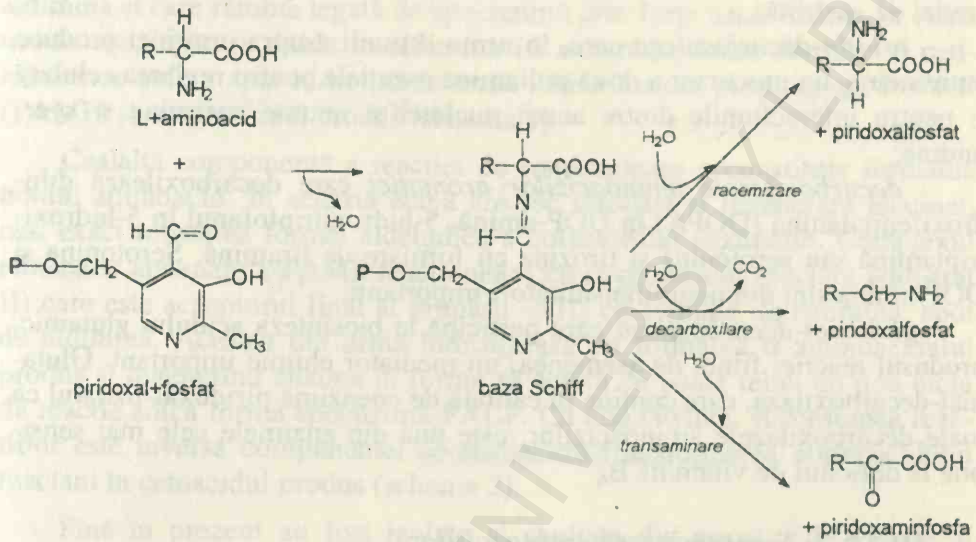


Figura 7. *Mecanismul general de transformare a aminoacizilor sub acțiunea enzimelor piridoxalfosfat-dependente*

În felul acesta aminoacidul este activat în vederea realizării transformărilor enzimatice ulterioare. Formarea bazei Schiff între aminoacid și piridoxal-fosfat are loc în situsul catalitic al enzimei. Principalele procese enzimatice în care intervin enzimele piridoxalfosfat-dependente sînt transaminarea, decarboxilarea, deshidratarea și racemizarea aminoacizilor. În toate aceste transformări, prima fază o constituie activarea aminoacizilor sub formă de bază Schiff (figura 7).

III.5.6.1. Decarboxilarea aminoacizilor

Reacțiile de decarboxilare a aminoacizilor sînt catalizate de aminoacid-decarboxilaze specifice piridoxalfosfat-dependente. Constituind una din căile generale de degradare a aminoacizilor, decarboxilarea acestora reprezintă în același timp o cale de biosinteză a unor compuși biologic activi cum ar fi aminele biogene și unii hormoni tisulari de tipul adrenalinei, noradrenalinei, serotoninei, histaminei etc. Principalele decarboxilaze ce catalizează aceste procese sînt:

- *histidin-decarboxilaza* ce catalizează decarboxilarea histidinei cu formare de histamină. Aceasta este o amină cu proprietăți vasopresoare a

cărei activitate este extinsă de mastocite ca răspuns la acțiunea antigen-anticorp ce are loc la suprafața acestora (astm, eczeme, diferite alergii etc.). Histamina joacă, în același timp rol de mesager secundar al gastrinei în stomac unde permite reglarea secreției de acid clorhidric după stoparea secreției de gastrină;

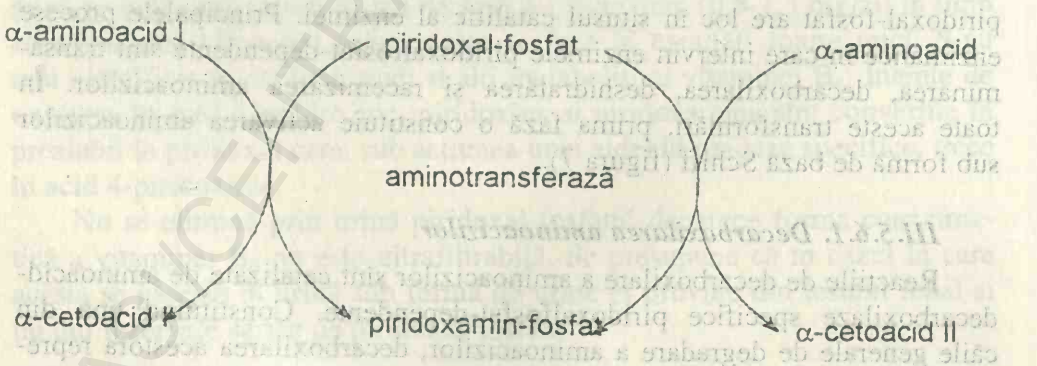
- *ornitin-decarboxilaza* care, în urma acțiunii asupra ornitinei produce putresceina, un precursor a două poliamine esențiale pentru reglarea celulară și pentru interacțiunile dintre acizii nucleici și anume spermina și spermidina;

- *decarboxilazele aminoacizilor aromatici* care decarboxilează dihidroxifenilalanina (DOPA) în DOP-amină, 5-hidroxitriptofanul în 5-hidroxitriptamină sau serotonină si tirozina cu formare de tiramină. Serotonina și DOP-amina sînt doi neurotransmițători importanți;

-*glutamat-decarboxilaza* care participă la biosinteza acidului glutamic, produsul reacției fiind, de asemenea, un mediator chimic important. Glutamat-decarboxilaza, care conține în calitate de coenzimă piridoxal-fosfatul ca toate decarboxilazele aminoacizilor, este una din enzimele cele mai sensibile la deficitul de vitamină B_6.

III.5.6.2. Transaminarea aminoacizilor

Toți aminoacizii, cu excepția lizinei, pot suferi reacții de transaminare reversibilă catalizate de aminotransferaze specifice ce conțin piridoxal-fosfatul în calitate de coenzime. În toate cazurile, acceptorul grupei $-NH_2$ este un α-cetoacid care se transformă într-un α-aminoacid:



Aminotransferazele sînt localizate atît în mitocondrii cît și în citosol, iar rolul lor este extrem de important. Reacțiile de transaminare au loc în două etape, piridoxal-fosfatul jucînd rol de acceptor temporar de grupe $-NH_2$ datorită capacității lui de a trece reversibil în piridoxamin-fosfat. În prima etapă, gruparea $-NH_2$ a aminoacidului reactant se condensează cu

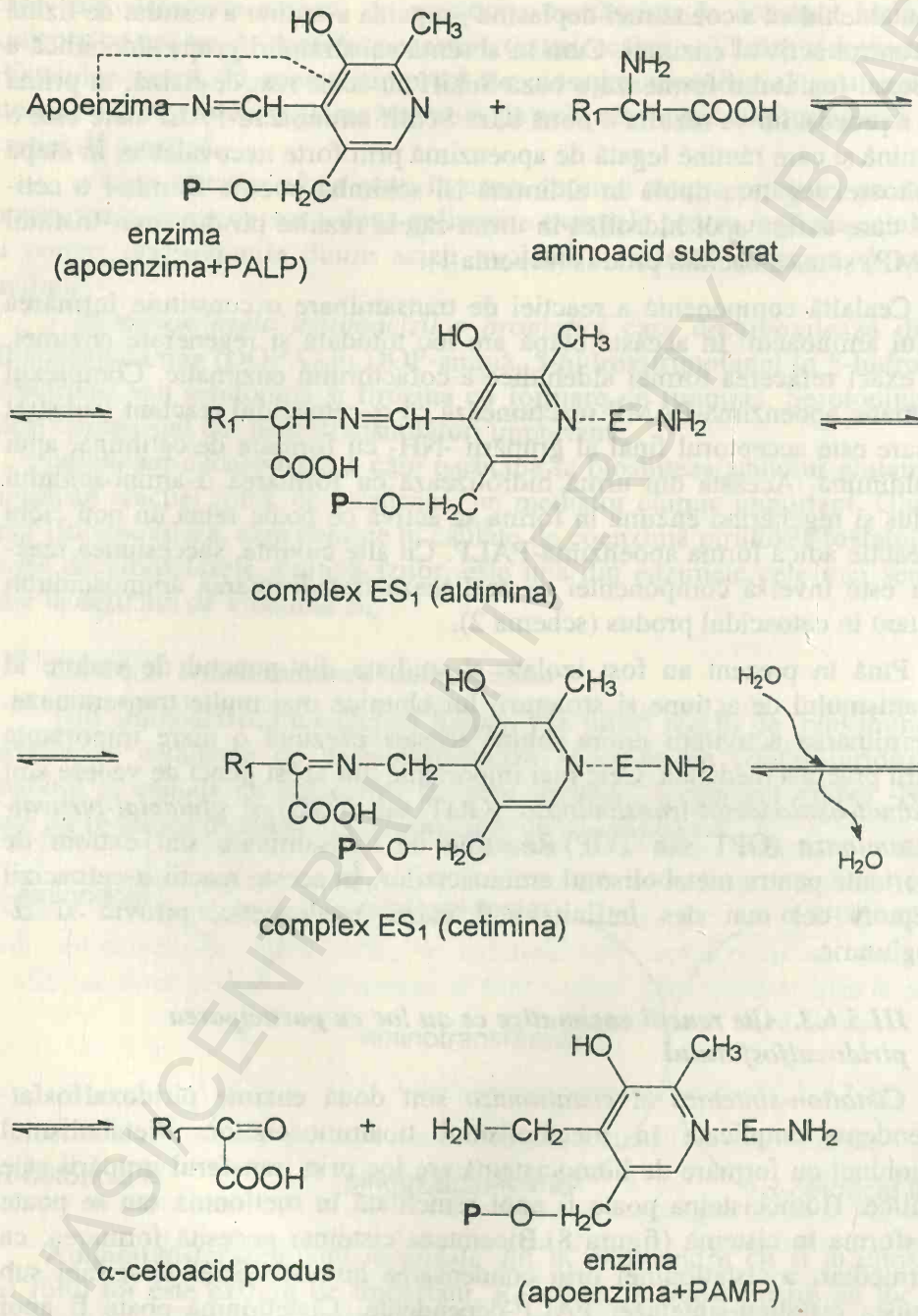
grupa aldehidică a coenzimei deplasînd gruparea ε-amino a restului de lizină din centrul activ al enzimei. Cum în absența substratului grupa aldehidică a piridoxal-fosfatului formează o bază Schiff cu acest rest de lizină, în prima fază a procesului va rezulta o nouă bază Schiff aminoacid-PALP care este o aldimină și care rămîne legată de apoenzimă prin forțe necovalente. În etapa următoare, legătura dublă în aldimină își schimbă poziția formînd o cetimină care suferă apoi hidroliză în urma căreia rezultă piridoxamin-fosfatul (PAMP) și α-cetoacidul produs (schema 1).

Cealaltă componentă a reacției de transaminare o constituie formarea noului aminoacid. În această etapă are loc totodată și regenerare enzimei, mai exact refacerea formei aldehidice a cofactorului enzimatic. Complexul enzimatic apoenzimă-PAMP reacționează cu α-cetoacidul reactant (substrat II) care este acceptorul final al grupării $-NH_2$ cu formare de cetimină, apoi de aldimină. Aceasta din urmă hidrolizează cu formarea α-aminoacidului produs și regenerînd enzima în forma sa activă ce poate relua un nou ciclu de reacție adică forma apoenzimă-PALP. Cu alte cuvinte, succesiunea reacțiilor este inversă componentei ce realizează transformarea aminoacidului reactant în cetoacidul produs (schema 2).

Pînă în prezent au fost izolate și studiate din punctul de vedere al mecanismului de acțiune și structurii lor chimice mai multe transaminaze. Determinarea activității unora dintre acestea prezintă o mare importanță pentru practica medicală. Cele mai importante din acest punct de vedere sînt *glutamat-oxaloacetat-transaminaza* (GOT sau TGO) și *glutamat-piruvat-transaminaza* (GPT sau TGP).Reacțiile de transaminare sînt extrem de importante pentru metabolismul aminoacizilor. În aceste reacții α-cetoacizii acceptori cel mai des întîlniți sînt acizii oxaloacetic, piruvic și α-cetoglutaric.

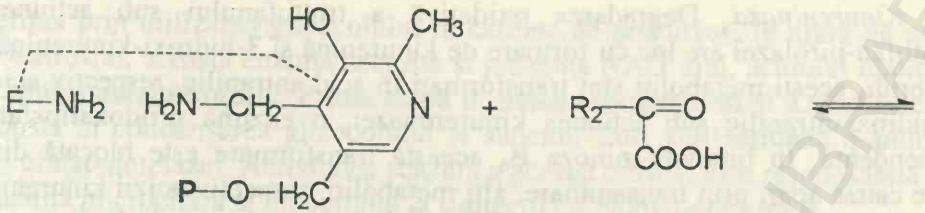
III.5.6.3. Alte reacții enzimatice ce au loc cu participarea piridoxalfosfatului

Cistation-sintetaza și *cistationaza* sînt două enzime piridoxalfosfat-dependente implicate în metabolismul tioaminoacizilor. Metabolismul metioninei cu formare de homocisteină are loc prin transferul grupării sale metilice. Homocisteina poate fi apoi remetilată în metionină sau se poate transforma în cisteină (figura 8).Biosinteza cisteinei necesită formarea, ca intermediar, a cistationinei prin condensarea homocisteinei și serinei sub acțiunea cistation-sintetazei PALP-dependente. Cistationina poate fi apoi hidrolizată sub acțiunea cistationazei cu formare de cisteină, această din urmă enzimă fiind, de asemenea, piridoxalfosfat-dependentă.



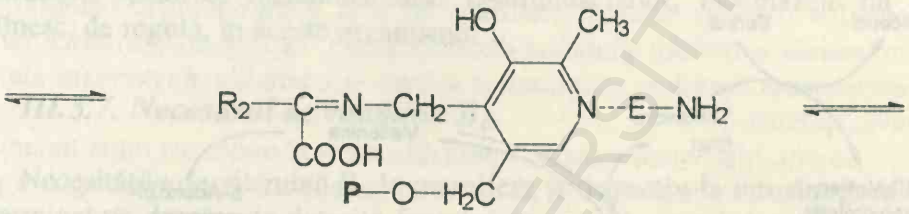
Schema 1. *Mecanismul reacției de transaminare. Etapa formării cetoacidului.*

BCU IASI CENTRALA UNIVERSITY LIBRARY

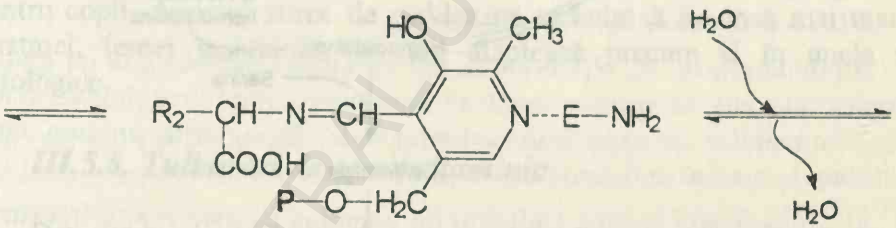


enzimă
(apoenzimă+PAMP)

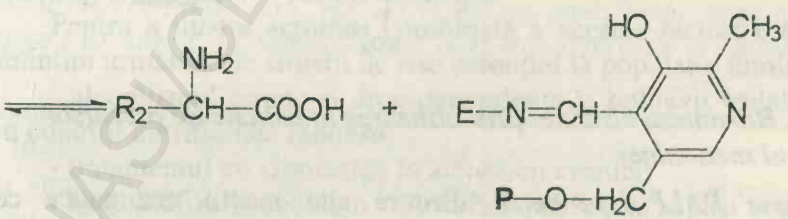
α-cetoacid substrat



complex ES_2 (cetiminã)



complex ES_2 (aldiminã)



aminoacid produs

enzimă
(apoenzimă+PALP)

Schema 2. *Mecanismul reacției de transaminare. Etapa formării aminoacidului.*

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Kinureninaza. Degradarea oxidativă a triptofanului sub acțiunea triptofan-pirolazei are loc cu formare de kinurenină și 3-hidroxi-kinurenină. Ulterior, acești metaboliți sînt transformați în acid antranilic, respectiv acid 3-hidroxiantranilic sub acțiunea kinureninazei, o enzimă piridoxalfosfat-dependentă. În hipovita-minoza B_6 această transformare este blocată din care cauză apar, prin transaminare, alți metaboliți, respectiv acizii kinurenic și antranilic care se elimină pe cale renală. Această cale metabolică secundară stă la baza testului de evaluare a rezervelor de triptofan din organism.

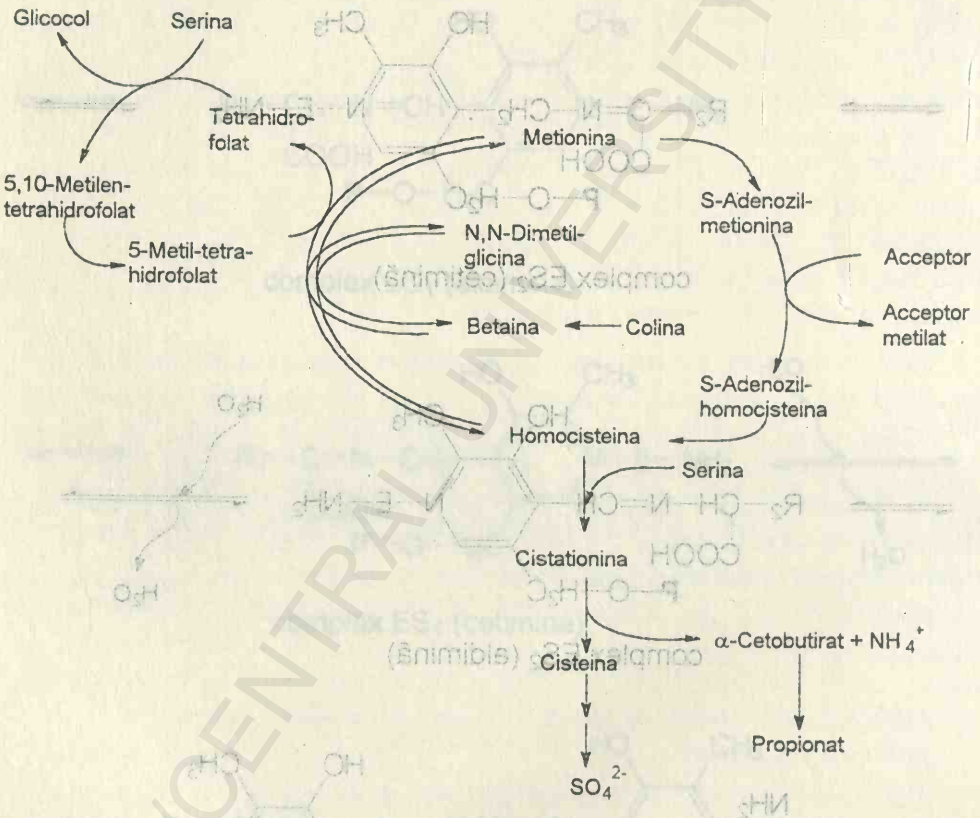


Figura 8. *Biosinteza cisteinei prin utilizarea în calitate de precursor al metioninei*

Alte enzime PALP-dependente. Printre alte reacții enzimatice ce utilizează piridoxalfosfatul în calitate de cofactor se mai numără cele catalizate de serin-dezaminază, serin-hidroximetil-transferază, δ-amino-levulinat-sintetază etc.

Serin-dezaminaza catalizează reacția de conversie a serinei în acid piruvic. Serin-hidroximetil-transferaza catalizează reacția de biosinteză a

serinei prin utilizarea glicocolului în calitate de precursor. În afară de piridoxalfosfat, această enzimă necesită și prezența NAD-ului, acidului lipoic și acidului tetrahidrofolic. Prima etapă în biosinteza hemului și a porfirinelor constă în condensarea glicocolului și succinil-CoA sub acțiunea δ-aminolevulinat-sintetazei. Activitatea scăzută a acestei enzime este responsabilă de anemia microcitară și hipocromă la subiecții cu hipovitaminoză B_6.

Racemazele aminoacizilor sînt, de asemenea, enzime piridoxalfosfat-dependente. Cum organismul uman și al mamiferelor nu posedă sistemele enzimatice specifice metabolismului D-aminoacizilor, racemazele nu se întîlnesc, de regulă, în aceste organisme.

III.5.7. Necesarul de vitamină B_6

Necesitățile de vitamină B_6 la mamifere și respectiv la om sînt greu de determinat pe de o parte datorită faptului că această vitamină este prezentă în majoritatea alimentelor de origine animală și/sau vegetală, iar pe de altă parte datorită existenței unei surse de piridoxină endogenă, sintetizată de bacteriile saprofite ale tubului digestiv. Cu toate acestea, OMS recomandă un aport de 2,0-2,2 mg/zi pentru adulți și respectiv 25-30 mg/Kg corp/zi pentru copii. Aportul zilnic de piridoxină trebuie să fie însă mai mare la vîrstnici, femei însărcinate și care alăptează precum și în unele stări patologice.

III.5.8. Tulburări de aport vitaminic

Datorită largii răspîndiri a piridoxinei în alimente, hipo- și avitaminoza B_6 la om nu este de origine pur nutrițională ci, de cele mai multe ori, ea rezultă ca urmare a interacțiunii mai multor factori: factori nutriționali, farmacologici, genetici și factori de mediu.

Pentru a ilustra acțiunea combinată a acestor factori este suficient să amintim următoarele situații de risc carențial la populația lumii "civilizate":

- alcoolismul cronic și drog-dependența la bolnavii spitalizați, asociate cu condiții nutriționale modeste;
- tratamentul cu izoniazidă la alcoolicii cronici;
- hemodializa la subiecții cu insuficiență renală supuși unui regim hipocaloric și hipoproteic;
- sarcină după întreruperea recentă a unui tratament contraceptiv prelungit cu estroprogestative;
- sarcină la femei tratate cu antagoniști ai vitaminei B_6.

Manifestările deficitului vitaminic rămîn mult timp la nivel biochimic,

iar simptomele clinice apar mai tîrziu și nu sînt specifice.

III.5.8.1. Manifestările clinice și biochimice ale hipovitaminozei B_6 experimentale

Hipovitaminoza B_6 experimentală la animalele de laborator se manifestă prin homocistinurie datorată deficitului de cistation-sintetază și cistationază, acidurie xanturenică prin deficit de kinureninază, anemie microcitară și hipocromă (activitate scăzută a δ-amino-levulinat-sintetazei), convulsii datorate scăderii cantității de acid γ-aminobutiric cerebral prin diminuarea activității glutamat-decarboxilazei, neuropatii periferice cu degenerescența nervilor, ganglionilor spinali și coarnelor posterioare ale măduvei spinării.

La om, hipovitaminoza B_6 apare de cele mai multe ori după tratamente îndelungate cu antagoniști ai piridoxinei și se manifestă prin stagnare ponderală, anemie microcitară și hipocromă, convulsii, dermatită seboreică, homocistinurie etc. Datorită dereglării procesului de biosinteză a bazelor purinice se observă și o perturbare a biosintezei acizilor nucleici, a proliferării celulare etc.,ceea ce explică anomaliile imunitare și umorale.

III.5.8.2. Cauzele hipovitaminozei B_6

Hipovitaminoza B_6 observată la om nu ajunge niciodată la un grad de complexitate atît de avansat încît să determine simptomatologia caracteristică animalelor de experiență avitaminizate. Dereglările produse rămîn mult timp la nivelul deficiențelor biochimice descrise mai sus.

a). Alcoolismul cronic. Deficitul de vitamină B_6 este foarte frecvent la alcoolici. Concentrația plasmatică, precum și nivelul hepatic al tuturor formelor structurale ale vitaminei B_6 sînt mult diminuate la aproximativ jumătate din alcoolicii cronici. În asemenea cazuri hipovitaminoza este cauzată de un aport insuficient, malabsorbție dar, mai ales, de o perturbare a metabolismului la nivelul conversiei piridoxalului în forma sa coenzimatică.

S-a demonstrat capacitatea alcoolului de a inhiba activitatea piridoxinkinazei și accelerarea catabolismului piridoxalfosfatului de către produșii de oxidare ai alcoolului (în special acetaldehida) care dislocă coenzima din complexul său cu albumina serică și activează fosfatazele alcaline membranare.

Pentru alcoolicii cronici este extrem de dificilă evaluarea simptomelor cauzate de deficitul în piridoxină comparativ cu simptomele alcoolismului: neuropatii periferice, comițialitate, dereglări psihiatrice, anemie hipocromă etc. Cu toate acestea, administrarea zilnică de vitamină B_6 are o acțiune

benefică indiscutabilă asupra modificărilor hematologice și neurologice.

b). Hipovitaminoza B_6 cauzată de interacțiuni medicamentoase. Multe medicamente folosite pentru tratamentul diferitelor maladii interferă cu piridoxina și derivații săi determinînd apariția simptomelor de hipovitaminoză. Izoniazida (hidrazida acidului izonicotinic) este un medicament larg utilizat în tratamentul tuberculozei. Acest preparat prezintă inconvenientul de a reacționa cu piridoxalfosfatul cu formarea unei hidrazone lipsită de activitate vitaminică. Un tratament de durată determină apariția simptomelor de hipovitaminoză, în special neuropatia periferică.

Anticoncepționalele cu administrare orală, ca de altfel toți steroizii, accelerează procesul de biosinteză a triptofan-pirolazei. Ca urmare este accelerat catabolismul triptofanului pe calea kinureninei și implicit are loc o inducție a kinureninazei, deci se realizează consum sporit de piridoxalfosfat pentru această cale metabolică. Paralel se diminuează mult activitatea altor enzime PALP-dependente. De altfel, depresiile psihice și deranjamentele digestive ale femeilor care utilizează contraceptive orale se explică prin reducerea rezervei de triptofan necesar biosintezei serotoninei în creier.

S-a mai semnalat existența unor interferențe între metabolismul vitaminei B_6 și cel al hidralazinei, cicloserinei și D-penicilaminei.

c). Hipovitaminoza B_6 la bolnavii psihici. Literatura de specialitate raportează unele observații clinice asupra unui mare număr de bolnavi psihici spitalizați care pun în evidență o incidență relativ crescută (10 %) a hipovitaminozei B_6. Analiza acestor cazuri a evidențiat acțiunea multiplă a mai multor factori ce determină carența vitaminică: alcoolismul, subnutriția, tratamentul medicamentos etc. Cercetările în acest domeniu nu sînt finalizate dar se speră elucidarea într-un viitor apropiat a patologiei carențiale în psihiatrie pentru ameliorarea simptomelor caracteristice printr-o vitaminoterapie adecvată.

d). Hemodializa. Bolnavii cu insuficiență renală supuși hemodializei prezintă în mod frecvent riscul instalării stării de hipovitaminoza B_6. Necesarul zilnic în piridoxină al acestora este mult superior aportului recomandat adultului normal. Cauzele ce determină hipovitaminoza persoanelor supuse în mod constant hemodializei nu sînt pe deplin elucidate. S-ar părea că la acești pacienți ar avea loc o inhibiție a fosforilării piridoxalului de către toxine care diminuează activitatea piridoxal-kinazei concomitent cu o activare a fosfatazelor ce hidrolizează piridoxalfosfatul. Unele tipuri de insuficiență renală se pot manifesta și prin alterarea imunității celulare curabile prin vitaminoterapie.

e). Sarcina și perioada neonatală. Perioada sarcinii este una din perioadele cele mai expuse riscului de hipovitaminoză B_6, ca de altfel ori-

cărui alt tip de hipovitaminoză. Acest lucru se explică prin necesitățile crescute în piridoxină în timpul sarcinii. Aceste necesități sînt pe deplin satisfăcute atunci cînd există un gradient de concentrație de 1:5 în favoarea fătului, ceea ce explică epuizarea rezervelor din organismul matern destul de repede care se manifestă prin binecunoscutele tulburări digestive ale femeii însărcinate.

Necesarul zilnic de vitamină B_6 este, de asemenea crescut în perioada de alăptare, deoarece o anumită pondere a piridoxinei din organismul matern trece în lapte pentru satisfacerea necesității vitaminice a noului-născut.

f). "Sindromul restaurantului chinezesc". Acesta este un sindrom temporar nutrițional cauzat de absorbtia intestinală a monoglutamatului de sodiu care intră în compoziția unor specialități din bucătăria chinezească. El se manifestă prin senzație de arsură, călduri, rigiditatea membrelor, dureri de cap etc. Mai multe cercetări au arătat asocierea acestui sindrom cu hipovitaminoza B_6 la aproximativ 50 % din cazuri.

III.5.8.3. Boli metabolice piridoxalfosfat-dependente

a). Homocistinuria PALP-dependentă. Maladia metabolică PALP-dependentă cea mai frecventă și cea mai bine studiată este homocistinuria prin deficit de cistationin-sintetază. Această enzimă catalizează reacția intermediară de formare a cistationinei în procesul de conversie a metioninei în cisteină. Deficitul de cistationin-sintetază determină homocistinuria "clasică" însoțită de luxația cristalinului, deformări osoase, complicații trombo-embolice și înapoiere mintală. Din punct de vedere biochimic se constată o acumulare considerabilă a metioninei și homocisteinei în sînge și urină. Vitaminoterapia este eficientă doar la aproximativ 40 % din bolnavi (doza administrată fiind de 250-500 mg/zi) și anume la cei care mai prezintă o oarecare activitate enzimatică reziduală, fiind ineficientă la persoanele cu deficit total în cistationin-sintetază. Bolnavii sînt de obicei purtători ai unei mutații care reduce afinitatea dintre apoenzimă și piridoxalfosfat.

b). Cistationinuria. Scindarea cistationinei cu formare de cisteină este o reacție hidrolitică catalizată de o altă enzimă piridoxalfosfat-dependentă, numită cistationază. Deficitul acestei enzime determină un tablou clinic atipic, dar asociat întotdeauna cu retardarea mintală și comitialitate. Majoritatea bolnavilor răspund pozitiv vitaminoterapiei cu doze farmacologice de piridoxină. Se pare că mutația ce determină maladia este responsabilă fie de reducerea afinității apoenzimei pentru piridoxalfosfat, fie de scăderea vitezei de biosinteză a apoenzimei.

c). Hiperornitinemia cu atrofia coroidiană și retiniană. Această maladie ereditară a metabolismului ornitinei se caracterizează prin creșterea considerabilă a concentrației serice de ornitină datorită deficitului în ornitin-aminotransferază, enzimă piridoxalfosfat-dependentă. În general, prin vitaminoterapie se realizează o ameliorare clinică și o normalizare a ornitinemiei.

d). Oxaluria primară este cauzată probabil de deficitul de α-cetoglutarat-glioxilat-carboligază din calea de biosinteză a acidului glioxilic. Această enzimă nu este piridoxalfosfat-dependentă, motiv pentru care reacția pozitivă la vitaminoterapie poate fi doar o consecință a transaminării acidului glioxilic în glicocol.

e). Aciduria xanturenică este datorată deficitului de kinureninază PALP-dependentă care controlează catabolismul triptofanului. Bolnavii prezintă înapoiere mintală și eliminare masivă de acid kinurenic și xanturenic, kinurenină și 3-hidroxi-kinurenină.

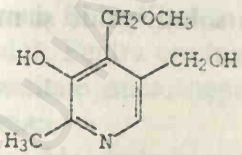
f). Anemia sideroblastică familială. Au fost raportate anemii hipocrome familiale sensibile la vitamina B_6. Unele studii efectuate în Japonia pun în evidență un deficit de δ-amino-levulinat-sintetază eritrocitară care este o enzimă piridoxalfosfat-dependentă ce participă la biosinteza hemului.

III.5.8.4. Hipervitaminoza B_6

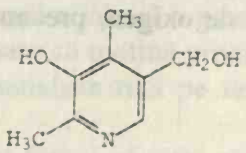
Piridoxina este considerată ca fiind unul din medicamentele cele mai puțin toxice. Cu toate acestea, administrarea de doze foarte mari de vitamină B_6 (2-4 g/zi) timp de cîteva luni poate determina neuropatie periferică senzitivă cu ataxie. Simptomele dispar la stoparea tratamentului cu preparate vitaminice.

III.5.9. Antivitamine B_6

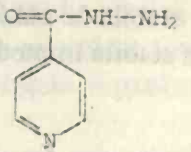
Numeroase substanțe cu structură chimică asemănătoare piridoxinei au fost testate din punctul de vedere al activității lor antivitaminice. Dintre acestea, activitate antimetabolică netă prezintă 4-metoxipiridoxina, deoxipiridoxina și hidrazida acidului izonicotinic:



4-metoxi-piridoxina



deoxipiridoxina



hidrazida izonicotinica

III.6. BIOTINA (VITAMINA H, VITAMINA B_8, COENZIMA R)

III.6.1. Generalități

Biotina a fost descoperită de către Kögl în 1934 în timpul cercetărilor sale asupra așa-numitului Bios II. Autorul arată că biotina este unul din constituienții factorului Bios II izolat din gălbenușul de ou și că reprezintă un factor de creștere pentru drojdia de bere. Cîțiva ani mai tîrziu, West și Wilson arată că așa-numita coenzimă R cu rol în stimularea creșterii și respirației la *Rhizobium trifolii* este identică cu biotina și cu factorul Bios II B studiați de Kögl.

Cercetări ulterioare au arătat că factorii izolați din gălbenușul de ou și respectiv ficatul de șobolan prezintă proprietăți chimice și caracteristici biologice foarte apropiate dar au structuri chimice diferite. În urma determinării punctului de topire și a activității optice, factorul izolat din gălbenușul de ou a fost numit α-biotină, iar cel provenit din ficat β-biotină.

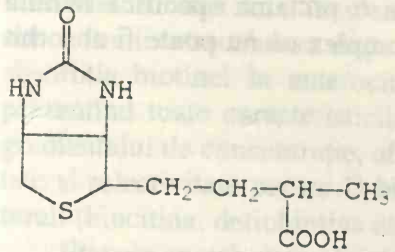
Structura chimică a biotinei a fost apoi confirmată în urma sintezei sale de către Harris și Fölkers în 1943.

III.6.3. Structura chimică și proprietățile biotinei

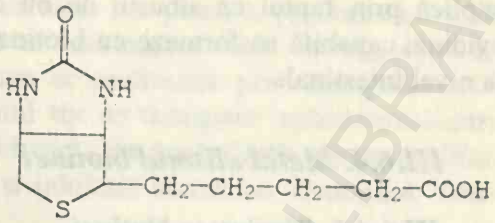
Structurile chimice ale α-biotinei, β-biotinei și biocitinei (cel mai des întîlnit derivat natural al biotinei) au fost stabilite în urma studiului produșilor de hidroliză, a oxidării cu diferiți agenți oxidanți etc.

În ficat, rinichi, pancreas, sînge etc.există o enzimă specifică - biotinolaza- care hidrolizează biocitina (și alți derivați naturali ai biotinei) cu formare de biotină și lizină.

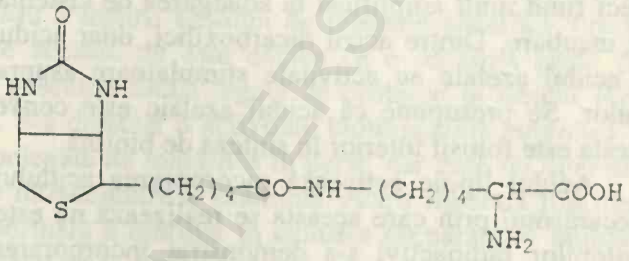
Biotina este o substanță cristalină, incoloră, solubilă în apă și alcool. Este stabilă la căldură și față de oxigen, precum și în soluții acide și mai puțin stabilă în medii alcaline.



α-biotina



β-biotina



biocitina

III.6.3. Stare naturală

Biotina este destul de larg răspîndită în regnul animal și vegetal, atît în stare liberă cît și sub forma unor derivați.

Cantități mari de biotină se găsesc în drojdia de bere (aproximativ 90 μg/100 g). Majoritatea alimentelor de origine animală și vegetală conțin cantități satisfăcătoare de biotină. Cele mai bune surse alimentare de biotină sînt: ficatul, carnea de pasăre, porc și vită, ouăle, laptele, brînza, peștele (în special cel oceanic), varza, spanacul, tomatele, pîinea intermediară și neagră etc.

La biotina exogenă, ingerată odată cu alimentele, se adaugă și forma endogenă reprezentată de biotina sintetizată de bacteriile saprofite ale tubului digestiv. La mamifere, biotina endogenă reprezintă o pondere ce nu poate fi neglijată în necesarul zilnic al organismului animal în această vitamină. Pentru om însă, se pare că biotina produsă de flora microbiană este în cantitate mică, neputînd satisface nici pe de parte cerințele organismului uman.

Mai trebuie menționat faptul că deși gălbenușul de ou reprezintă una din cele mai bune surse de biotină pentru om, consumul exagerat de ouă crude determină apariția simptomelor de hipovitaminoză. Acest lucru se

explică prin faptul că albușul de ou conține o proteină specifică numită avidină, capabilă să formeze cu biotina un complex ce nu poate fi absorbit la nivel intestinal.

III.6.4. Metabolismul biotinei

III.6.4.1. Biosinteza biotinei

Încă din 1942 s-a arătat că acidul pimelic este implicat în procesul de biosinteză a biotinei. Eakin descrie în aceeași perioadă un efect stimulator al acidului pimelic asupra biosintezei biotinei de către *Aspergillus niger*, acest efect fiind mult amplificat la adăugarea de cisteină și/sau cistină în mediul de incubare. Dintre acizii dicarboxilici, doar acidul pimelic, acidul suberic și acidul azelaic au activitate stimulatoare asupra creșterii microorganismelor. Se presupune că acidul azelaic este convertit în acid pimelic, iar acesta este folosit ulterior în sinteza de biotină.

Acidul lipoic activează incorporarea acidului pimelic în biotină dar mecanismul prin care aceasta se realizează nu este elucidat. Prin utilizarea izotopilor radioactivi s-a demonstrat incorporarea de $^{14}CO_2$ în carbonul ureidic și carbonul carboxilic al biotinei. Pe baza datelor experimentale obținute s-a considerat că cisteina, pimenil-CoA și carbamil-fosfatul joacă, de asemenea, rol de precursori în biosinteza biotinei.

III.6.4.2. Absorbția intestinală

Pentru om se poate considera că întreaga cantitate de biotină necesară este de origine exogenă, dat fiind faptul că vitamina produsă de bacteriile saprofite ale tractului intestinal este în cantitate foarte mică. Biotina din alimente se găsește preponderent sub formă legată de proteine prin intermediul grupărilor ε-amino ale resturilor de lizină din catenele polipeptidice. Nefiind vorba de o legătură peptidică între biotină și proteine ci de o legătură amidică, peptidazele intestinale nu pot hidroliza această legătură în vederea eliberării vitaminei. Sucul pancreatic conține însă o enzimă specifică - biotinidaza - ce face parte din clasa hidrolazelor și care scindează legătura amidică biotină-lizină din complecșii vitamino-proteici eliberînd vitamina din alimente în lumenul intestinal.

Mecanismul absorbției intestinale a biotinei este puțin cunoscut la om. În lucrările lor, Grasset și colab. raportează unele date experimentale obținute pe material bioptic din intestinul subțire provenit de la mai mulți copii, prin care arată că biotina este absorbită sub forma sa liberă la nivelul jejunului și ileonului proximal contra gradientului concentrației sale, în prezența sodiului. La o concentrație de aproximativ 10^{-5} M în lumenul

intestinal, biotina se acumulează în celulele din peretele jejunului atingînd concentrații intracelulare de peste 2,6 ori mai mari. Aceste date sugerează că absorbția biotinei în enterocitul uman se realizează prin transport activ, prezentînd toate caracteristicile acestui tip de transport: vehiculare contra gradientului de concentrație, afinitate înaltă, Na-dependență, stereospecificitate și selectivitate pentru D-biotină și inhibiția absorbției analogilor structurali (biocitina, detiobiotina etc.).

Etapele metabolismului intraenterocitar al biotinei nu sînt pe deplin elucidate. Studii cromatografice ale ^{14}C-biotinei acumulate în preparatele bioptice din intestinul subțire normal arată că vitamina se găsește sub formă liberă. Nu s-a pus în evidență pînă în prezent existența unui metabolism intraenterocitar specific sau a legării biotinei de proteine specifice sau nu din enterociclu. Cu toate acestea nu este exclus ca o anumită parte din rezerva de biotină să se găsească totuși legată de proteine în timpul fazei intracelulare a absorbției. S-a detectat o activitate biotinidazică puternică în intestinul subțire uman, nelegată de marginea în perie, dar care nu intervine în procesul de acumulare intracelulară a vitaminei. Acest aspect a fost confirmat prin acumularea normală a biotinei în celulele preparatelor bioptice din intestinul subțire provenit de la copii cu deficit total de biotinidază.

III.6.4.3. Circulația biotinei

Biotina este vehiculată de către sînge atît sub formă liberă cît și sub formă legată de proteinele serice (albumină, globuline), dar pînă în prezent nu s-a pus în evidență existența unor proteine vector specifice. Biotina liberă reprezintă aproximativ 20 % din biotina plasmatică totală. La adulți biotinemia crește în prioada imediat următoare meselor, revenind la valoarea normală după 1,0-1,5 ore. Este interesant că la copii, începînd cu perioada neonatală pînă la pubertate biotinemia este practic constantă (0,58 0,14 ng/ml) chiar și după mese.

Sîngele vehiculează biotina spre organe și țesuturi. Pînă în prezent literatura de specialitate nu raportează date privind repartiția biotinei în organism. Se presupune că țesutul hepatic conține rezerve importante ale acestei vitamine deoarece la copiii cu deficit total de biotinidază, nu apar simptome ale insuficienței carboxilazelor decît după 10-15 zile de la întreruperea completă a vitaminoterapiei.

III.6.4.4. Activarea biotinei

Pentru îndeplinirea rolului său de cofactor biotina trebuie să interacționeze cu apoenzimele carboxilazelor. Activarea biotinei și fixarea ei pe apoenzimă reprezintă două etape importante ale metabolismului său ce au

putut fi elucidate doar în urma studiului erorilor metabolice la subiecți care prezentau asemenea maladii ereditare.

Modul de lagare al biotinei de apoenzimă este identic pentru toate carboxilazele biotin-dependente fiind vorba de o legătură covalentă de tip amidic ce se formează între gruparea -COOH a biotinei și gruparea ε-amino a unui rest de lizină din structura apocarboxilazei (figura 9).

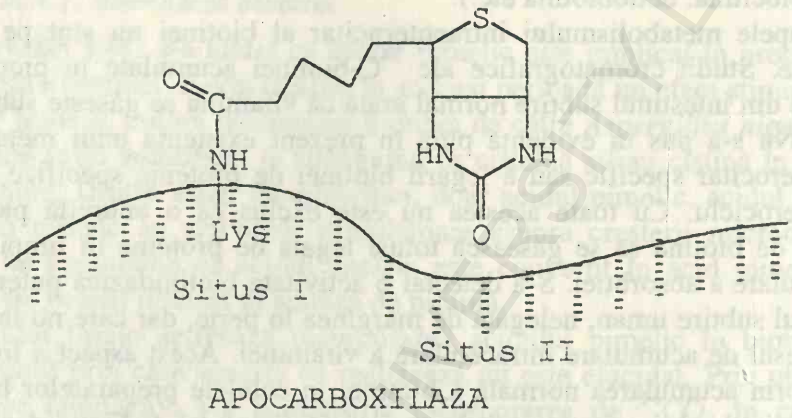


Figura 9. *Legarea biotinei de apoenzimă*

De fapt există două situsuri de legare a coenzimei de apoenzimă: situsul I care este reprezentat de un rest de lizină din catena polipeptidică ce formează o legătură covalentă cu gruparea -COOH a biotinei prin intermediul grupării sale -NH_2 libere și situsul II de legare unde se formează interacțiuni slabe între apoenzimă și oxigenul carbonilic al biotinei. Fixarea biotinei pe aceste situsuri ale apocarboxilazelor este un proces enzimatic catalizat de o sintetază specifică ATP-Mg-dependentă care există atît în mitocondrii (pentru carboxilazele mitocondriale) cît și în citosol (pentru acetil-CoA-carboxilază). Anterior fixării pe apoenzimă, biotina este activată sub formă de biotinil-AMP sub acțiunea unei biotin-ligaze:

$$\text{D-biotina} + \text{ATP} \xrightarrow[\text{biotin-ligaza}]{} \text{D-biotinil-5'-AMP} + \text{PP i}$$

$$\text{D-biotinil-5'-AMP} + \text{apocarboxilaza} \xrightarrow[\text{sintetaza carboxilazei}]{} \text{carboxilaza activa} + \text{AMP}$$

AMP-ul rezultat este apoi reciclat în alte procese metabolice, fiind în special utilizat ca precursor în biosinteza de ATP.

III.6.4.5. Catabolismul biotinei

Carboxilazele, care sînt enzime biotin-dependente, pot fi degradate hidrolitic sub acțiunea unor peptidaze nespecifice. Deoarece legătura dintre coenzimă și apoenzimă nu este o legătură peptidică, biotin-lizina poate fi considerată ca fiind produsul de degradare al carboxilazelor. Biotinidaza este singura hidrolază capabilă să cliveze această legătură pentru a face posibilă reciclarea biotinei. Căile de degradare, în continuare, a biotinei sînt puțin cunoscute. S-au detectat în urină D- și L-sulfoxizi, bisnorbiotină, precum și produși de oxidare a catenei laterale. Se pare însă că majoritatea cantității de biotină eliminată este sub forma vitaminei libere, fără a fi degradată în prealabil.

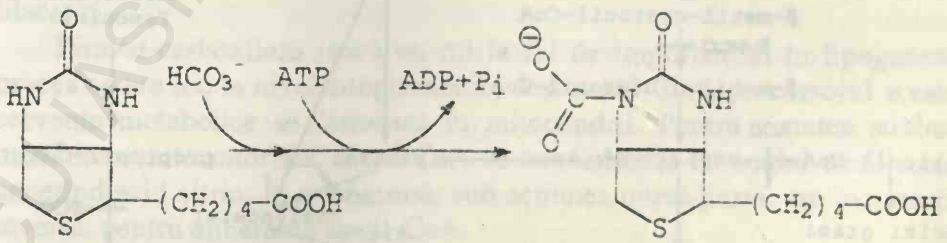
Eliminarea biotinei se face preponderent pe cale renală. Studii preliminare efectuate pe țesut renal pledează în favoarea unui transport Na-dependent, selectiv și inhibat puternic de biocitină. Aceste date sugerează existența unui mecanism de resorbție renală a biotinei, asemănător celui ce asigură absorbția intestinală a vitaminei. Rolul activității biotinidazei renale rămîne neclar.

III.6.5. Rolul biologic al biotinei

Principala funcție biochimică a biotinei constă în rolul ei de coenzimă pentru carboxilaze, enzime ce catalizează încorporarea CO_2 în diferite substanțe cu formarea unor metaboliți intermediari importanți.

III.6.5.1. Mecanismul carboxilării biotinei

Pentru a participa la reacțiile de carboxilare, dioxidul de carbon este activat într-o primă fază prin fixarea sa pe biotină. Această reacție se poate realiza atît prin utilizarea dioxidului de carbon ca-atare cît, mai ales, a anionilor bicarbonat. Biotina, fixată pe apocarboxilaze prin legătură covalentă, fixează CO_2 sub forma unei catene laterale în prezența ionilor de magneziu și cu ajutorul energiei din ATP, cu formare de carboxibiotină:



biotină carboxibiotină

Reacția de carboxilare a unui substrat are loc în două etape, prima etapă fiind întotdeauna carboxilarea cofactorului, ceea ce corespunde etapei de formare a complexului enzimă-substrat:

I. $HCO_3^- + ATP + biotină\text{-}apoenzimă \_\_ CO_2\text{-}biotină\text{-}apoenzimă + ADP + P_i$

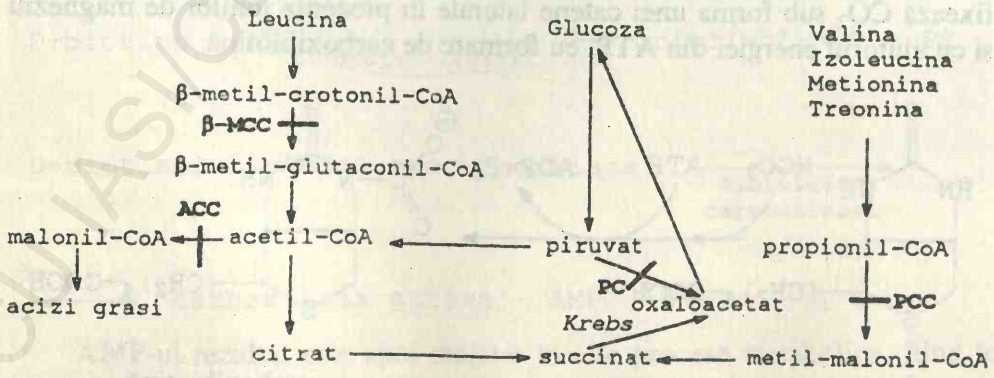
II. $CO_2\text{-}biotină\text{-}apoenzimă + substrat \_\_ CO_2\text{-}substrat + biotină\text{-}apoenzimă$

Aceste două etape sînt realizate în situsuri diferite ale carboxilazei. Carboxilarea biotinei în carboxibiotină are loc în situsul *"carboxilazic"* al enzimei, iar transferul grupei carboxil la un acceptor al acestuia se realizează în situsul *"carboxil-transferazic"*. Deși este vorba de situsuri catalitice diferite, actul catalitic se poate realiza datorită faptului că biotina este legată covalent de un rest de lizină din apoenzimă sub forma unui *"braț"* mobil de aproximativ 1,4 nm și poate oscila între situsul carboxilazic și cel carboxil-transferazic.

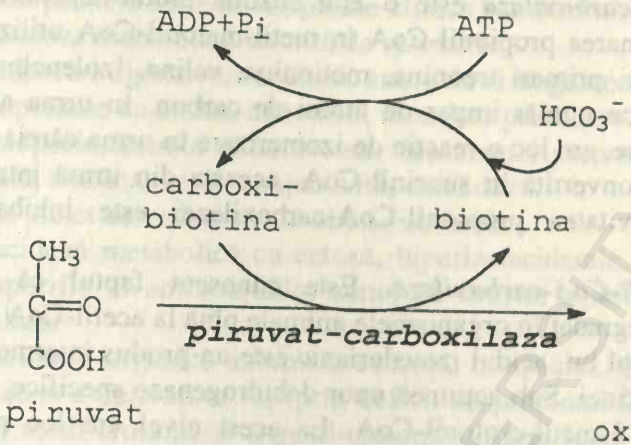
III.6.5.2. Carboxilazele biotin-dependente

Deși mecanismul carboxilării biotinei este comun tuturor enzimelor din această grupă, structura cuaternară, localizarea și efectorii enzimelor biotin-dependente sînt extrem de diferite. Astfel, acetil-CoA-carboxilaza este o enzimă citoplasmatică în timp ce alte carboxilaze sînt localizate în mitocondrii. Piruvat-carboxilaza este un tetramer de tip α_4 al cărui activator alosteric este acetil-CoA. Propionil-CoA-carboxilaza și β-metil-crotonil-CoA-carboxilaza sînt de asemenea tetrameri ($\alpha_2\beta_2$), activați de ionii metalelor bivalente.

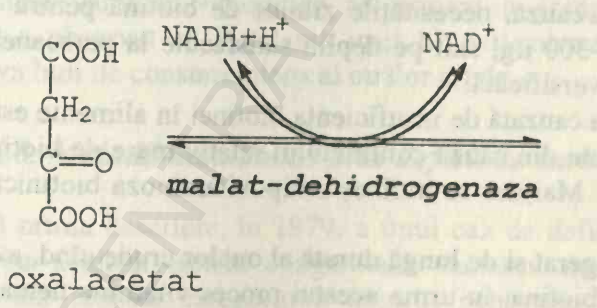
Principalele căi metabolice controlate de carboxilazele biotin-dependente sînt reprezentate schematic în figura 10.



Piruvat-carboxilaza catalizează reacția de conversie a piruvatului în oxaloacetat:



Această enzimă catalizează prima etapă a gluconeogenezei la nivel mitocondrial, etapele ulterioare avînd loc în citoplasmă. Cum membrana mitocondrială nu este permeabilă pentru oxaloacetat și NADH, etapa imediat următoare o constituie conversia oxaloacetatului în malat, acesta din urmă putînd penetra membrana mitocondrială pentru a trece în citoplasmă:



În citoplasmă are loc reacția inversă, cînd se regenerează acidul oxalilacetic.

Piruvat-carboxilaza joacă un rol la fel de important și în lipogeneză, proces ce are loc la nivel citoplasmatic, deși acetil-CoA, precursorul acestei secvențe metabolice se formează în mitocondrii. Pentru a putea străbate membrana mitocondrială, acetil-CoA se condensează cu acidul oxalilacetic generînd acid citric. În citoplasmă, sub acțiunea citrat-liazei, are loc reacția inversă, pentru eliberarea acetil-CoA.

Acetil-CoA-carboxilaza catalizează prima reacție a căii de biosinteză a acizilor grași cînd are loc carboxilarea acetil-CoA cu formare de malonil-

CoA. Activitatea acetil-CoA-carboxilazei este controlată de insulină și citrat.

Propionil-CoA-carboxilaza este o altă enzimă biotin-dependentă ce catalizează transformarea propionil-CoA în metil-malonil-CoA utilizînd în calitate de precursori primari treonina, metionina, valina, izoleucina, precum și acizii grași cu număr impar de atomi de carbon. În urma acțiunii unor mutaze specifice, are loc o reacție de izomerizare în urma căreia metil-malonil-CoA este convertită în succinil-CoA, aceasta din urmă intrînd în ciclul Krebs. Activitatea propionil-CoA-carboxilazei este inhibată de avidină.

β-metil-crotonil-CoA-carboxilaza. Este cunoscut faptul că acidul izovalerianic este degradat în organismele animale pînă la acetil-CoA și acid acetilacetic. La rîndul lui, acidul izovalerianic este un produs intermediar al metabolismului leucinei. Sub acțiunea unor dehidrogenaze specifice, izovaleril-CoA trece în β-metil-crotonil-CoA. La acest nivel are loc mărirea catenei atomilor de carbon prin carboxilare, sub acțiunea β-metil-crotonil-CoA-carboxilazei, care este o enzimă biotin-dependentă.

III.6.6. Necesarul de biotină

Biotina este relativ larg răspîndită, atît în regnul vegetal cît și în cel animal, Din această cauză, necesitățile zilnice de biotină pentru om, care sînt evaluate la 200-300 μg, sînt pe deplin satisfăcute la persoanele cu alimentație naturală diversificată.

Hipovitaminoza cauzată de insuficiența biotinei în alimente este extrem de rar întîlnită, tocmai din cauza conținutului relativ mare de biotină al majorității alimentelor. Mai des se întîlnește hipovitaminoza biotinică în două situații artificiale:

- consumul exagerat și de lungă durată al ouălor crude cînd, avidina din albuș complexează biotina, în urma acestui proces vitamina nemaiputînd fi absorbită la nivel intestinal;
- nutriția parenterală exclusivă și nutriția enterală artificială de lungă durată. În ambele cazuri se impune cu acuitate un aport suplimentar de biotină sub forma preparatelor farmaceutice.

III.6.7. Tulburări de aport vitaminic

Datorită largii răspîndiri a biotinei în produsele alimentare, stările de hipovitaminoză cauzate de carența biotinică la om sînt extrem de rare, cu excepția situațiilor menționate mai sus.

Deși rare, stările carențiale au putut fi observate și descrise amănunțit, fiind astazi cunoscut sindromul deficitului carboxilazic. Acest deficit se manifestă printr-o serie de simptome clinice caracteristice:

- acidoză metabolică însoțită de cetozurie;
- tulburări digestive, vărsături, anorexie și stagnarea creșterii;
- hipotonie cu ataxie, convulsii, retardare psihomotorie;
- alopecie,dermite eritematoase, descuamări preponderent periorificiale, glosită, cheilită, keratoconjuctivită, candidoză.

Din punct de vedere metabolic se observă:

- acidoză metabolică cu cetoză, hiperlactacidemie, hiperamoniemie si profil specific al aminoacizilor serici ca urmare a deficitului de piruvat-carboxilază;
- acidurie organică anormală cauzată, în special, de prezența acidului propionic și a derivaților lui (prin deficit de propionil-CoA-carboxilază), a acidului metil-crotonic și a metil-crotonil-glicinei (prin deficit de β-metil-crotonil-CoA-carboxilază) etc.

Momentul și modul de apariție a simptomelor carențiale sînt în funcție de cauză. În stările de carență observate după nutriția parenterală prelungită, efectul administrării biotinei este puțin studiat. Se cunoaște însă că administrarea în mod sistematic a unei doze zilnice de 30 μg/Kg corp în nutriția parenterală conduce la prevenirea hipovitaminozei.

În cazul carenței vitaminice ca urmare a complexării biotinei cu avidina, s-a observat că instalarea unei hipovitaminoze profunde are loc după cîteva luni de consum intens al ouălor crude.

III.6.8. Maladii metabolice prin deficit de carboxilaze

După prima descriere, în 1979, a unui caz de deficit multiplu de carboxilaze cu acidoză lactică congenitală, numărul maladiilor metabolice familiale din această categorie a crescut continuu. Un studiu statistic efectuat la *Hôpital des Enfant Malades* din Paris, arată că deficitul în carboxilaze reprezintă cauza cea mai frecventă a acidozei lactice congenitale, majoritatea acestor acidoze rămînînd încă inexplicabile. S-a arătat că este vorba de o maladie metabolică pe deplin curabilă prin administrarea per os a biotinei pe tot parcursul vieții. Simptomele clinice ale bolnavilor sînt riguros identice cu cele observate în carenta biotinică descrisă mai sus. Simptomele cutanate sînt asociate cu simptome neurologice și digestive dînd un tablou clinic stereotipic ce facilitează stabilirea diagnosticului. Dacă toate simptomele deficitului multiplu de carboxilaze sînt prezente, diagnosticul poate fi confirmat prin dozarea lactatemiei și aciduriei organice. În toate cazurile, instituirea vitaminoterapiei determină o evoluție spec-

taculoasă, primele semne de ameliorare putînd să apară chiar și după cîteva ore.

Studii biochimice și genetice aprofundate au arătat că această boală metabolică curabilă poate fi cauzată de două anomalii genetice autosomale recesive distincte: a). deficitul în sinteza carboxilazelor și b). deficitul în biotinidază. Deși are loc o dereglare a metabolismului biotinei în două puncte distincte, aceste două maladii genetice diferite produc unul și același sindrom similar cu cel al carenței alimentare în biotină.

Deficitul în sinteza decarboxilazelor se instalează ca formă acută în perioada neonatală, în timp ce în cazul ***deficitului în biotinidază*** boala se instalează mult mai tîrziu, în formă cronică. Cele două maladii mai diferă și prin nivelul biotinemiei. Asfel, biotinemia este normală sau ușor crescută în deficitul sintetazei carboxilazelor în timp ce deficitul în biotinidază se manifestă prin biotinemie scăzută.

Mecanismul scăderii concentrației serice a biotinei în deficitul de biotinidază poate avea cîteva explicații ce nu se exclud reciproc:

a) dereglări de eliberare a biotinei din biocitina alimentară prin diminuarea sau lipsa biotinidazei pancreatice. În mod firesc are loc o diminuare considerabilă a absorbției intestinale a biotinei. Administrarea pe cale orală a vitaminei (5 μg/Kg corp) conduce la restabilirea biotinemiei, ceea ce demonstrează integritatea sistemului de absorbție intestinală;

b) malabsorbția biotinei cu modificarea metabolismului intraenterocitar al vitaminei;

c) accelerarea eliminării pe cale renală a biotinei, al cărui mecanism rămîne incomplet elucidat.

III.6.9. Antivitamine

Printre substanțele cu activitate antagonistă biotinei se numără atît analogi structurali cît și substanțe cu structură chimică total diferită. Astfel, oxibiotina care este analogul oxigenat al biotinei, precum și acidul oxibiotinsulfonic și derivații lui sînt antagoniști foarte activi ai biotinei. Cea mai cunoscută antivitamină cu structură chimică total diferită de cea a biotinei este avidina, o proteină din albușul de ou capabilă să formeze cu biotina un complex stabil ce nu poate fi absorbit la nivel intestinal. Capacitatea de complexare este destul de mare (3 moli biotină/mol avidină), iar complexul format este stabil față de acizi, tripsină,proteazele pancreatice, hepatice, sanguine etc.

III.7. VITAMINA B_{12} (COBALAMINA, FACTOR ANTIPERNICIOS)

III.7.1. Generalități

Primele observații asupra existenței vitaminei B_{12} au fost făcute în 1926 de către Minot și Murphy care arată că ficatul crud, consumat în cantități mari, are o acțiune curativă în anemia pernicioasă. A urmat o perioadă de cercetări intense de aproximativ 20 de ani care au condus la izolarea din ficat a acestei vitamine de către Folkers și Rickers (SUA) care o denumesc vitamina B_{12} și respectiv Smith (Anglia) independent unii față de alții. Aceste cercetări au fost mult ușurate de observația că *Lactobacillus lactis* necesită vitamina B_{12} în calitate de factor de creștere indispensabil.

Utilizarea acestei vitamine în scop terapeutic a devenit posibilă după ce s-a observat că unele tulpini de *Streptomyces griseus, Streptomyces olivaceus, Bacillus megaterium* etc. sînt capabile să sintetizeze și să utilizeze în mediul de cultură cantități importante de vitamină B_{12}.

Structura chimică a acestei vitamine a fost elucidată abia în 1955 de către Told, Dorothy, Crowfoot-Modkin și alții.

În prezent, preparatele farmaceutice de vitamină B_{12} se obțin ca produs secundar în tehnologiile de fabricare a streptomicinei.

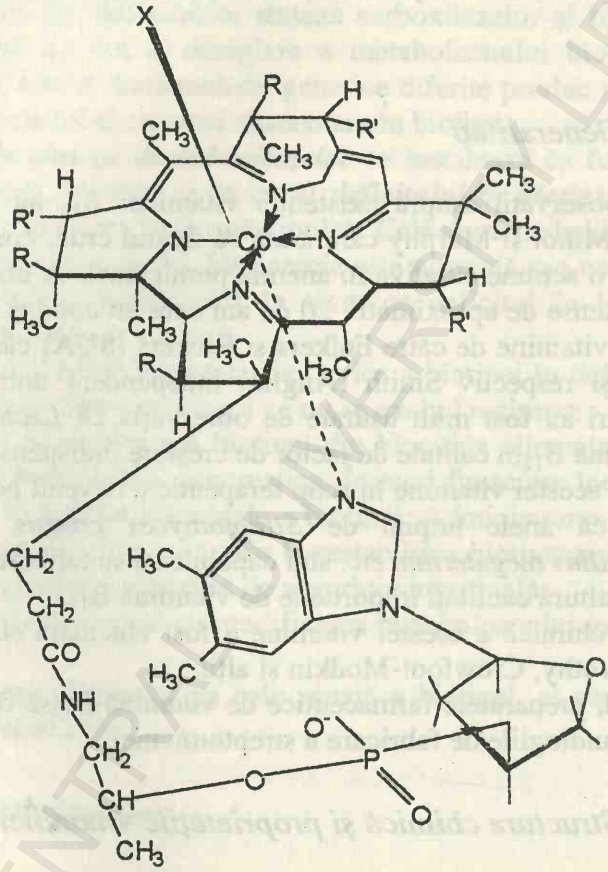
III.7.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei B_{12}

Structura chimică a vitaminei B_{12} este extrem de complexă ceea ce a determinat unele probleme privind momenclatura (figura 11).

Vitamina B_{12} propriu-zisă, denumită și ciancobalamina, este α-5,6-dimetil-benzimidazolil)-cobamida, a cărei moleculă este constituită din următoarele elemente:

- un nucleu corinic format din patru cicluri pirolice ce prezintă în calitate de catene laterale opt grupări metil, trei resturi de acetamidă și patru resturi de propilamidă;
- un nucleotid format din 5,6-dimetil-benzimidazol, un rest de riboză în forma sa furanozică și un rest de acid ortofosforic;
- un ion trivalent de cobalt localizat în centrul nucleului tetrapirolic;
- un radical cian (-CN), coordinat la ionul metalic central. Pentru

celelalte forme ale vitaminei B_{12}, radicalul -CN poate fi înlocuit cu gruparea -OH (hidroxicobalamină), $-CH_3$ (metilcobalamină) sau cu un rest adenozil (adenozilcobalamină) etc., fără modificări concludente ale activității vitaminice.



R : -CH_2-COOH ; radical acetil

R': -CH_2-CH_2-COOH ; radical propionil

Figura 11. *Structura chimică a vitaminei* B_{12}
X: -CN: ciancobalamina
-OH: hidroxicobalamina
$-CH_3$: metilcobalamina
-adenozil: adenozilcobalamina

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Cobalamina poate fi considerată drept un complex de coordinare al cobaltului, în care ionul metalic este înconjurat de șase liganzi. Cei patru atomi de azot ai nucleului tetrapirolic ocupă patru coordinări ale cobaltului în poziții ecuatoriale, iar una din pozițiile axiale coordinează nucleul benzimidazolic situat perpendicular pe planul nucleului corinic, în timp ce nucleul ribofuranozic este perpendicular pe restul benzimidazolic, deci paralel cu planul sistemului tetrapirolic. Cea de a 6-a coordinare este satisfăcută de anionul cian (în ciancobalamină), respectiv grupele -OH, $-CH_3$, adenozil, -Cl etc. (în celelalte forme vitaminice).

Vitamina B_{12} este o substanță cristalină, de culoare roșie care se descompune, fără a se topi, la temperaturi mai mari de 210°C. Este solubilă în apă și în alți solvenți polari. Soluțiile apoase sînt stabile la întuneric, la pH neutru și la temperaturi joase. La încălzire, în prezența luminii, sau la pH acid sau alcalin, cobalamina în soluție se descompune. Este instabilă și în prezența agenților reducători.

III.7.3. Stare naturală

Spre deosebire de toate celelalte vitamine, sursa exclusivă de vitamină B_{12} exogenă pentru om o constituie alimentele de origine animală. Plantele nu necesită cobalamină pentru creșterea și dezvoltarea lor din care cauză această vitamină nu este sintetizată și nu se găsește în legume și fructe, cu excepția celor fermentate datorită contaminării bacteriene. De aceea, regimul strict vegetarian poate da simptome de hipovitamonoză B_{12} dar nu și simptome de avitaminoză.

Cele mai bune surse de cobalamină pemtru om le reprezintă alimentele ce conțin ficat (în special ficat de vacă și pasăre), pește, ouă, brînzeturi, carne slabă de vițel, porc și pasăre, lapte etc.

III.7.4. Metabolismul cobalaminei

III.7.4.1. Biosinteza vitaminei B_{12}

Cobalamina este sintetizată de numeroase microorganisme din sol, mai ales de specii ale genurilor *Mycobacteria* și *Rhizobium*. Vitamina B_{12} mai este sintetizată și de microflora intestinală a omului si mamiferelor.

Secvența metabolică de biosinteză a nucleului tetrapirolic are drept precursori glicocolul și succinil-CoA, care în urma unui șir de reacții formează, în calitate de produs intermediar, acidul δ-aminolevulinic. O etapă importantă a acestei căi metabolice o constituie formarea porfobilinogenului. Alți metaboliți ce intervin în biosinteza cobalaminei sînt metionina

în calitate de donor de grupări metil, apoi treonina, acidul folic, acidul p-aminobenzoic etc.

Există numeroase microorganisme ce nu pot sintetiza vitamina B_{12}, aceasta reprezentînd în acest caz un factor de creștere. Cele mai cunoscute sînt *Lactobacillus lactis, Lactobacillus leichmanii, Escherichia coli* etc. Aceste tulpini sînt de altfel utilizate în metodele microbiene de determinare a vitaminei B_{12}.

III.7.4.2. Absorbția intestinală a vitaminei B_{12}

Vitamina B_{12} din alimente este absorbită printr-un mecanism specific la nivelul ileonului, la acest mecanism participînd atît stomacul prin mediul său acid cît și pancreasul prin proteazele sucului pancreatic. În prima etapă, cobalamina este eliberată din alimente datorită aciditătii gastrice. Tot în stomac, vitamina B_{12}se leagă apoi de așa-numita proteină R de origine salivară și gastrică. Proteinele de tip R sînt complecși glicoproteici cu o afinitate înaltă față de cobalamine. În intestinul subțire, proteazele pancreatice hidrolizează proteinele R punînd în libertate vitamina care este imediat complexată de așa-numitul factor intrinsec Castle. Factorul intrinsec uman (F.I.) este secretat de celulele parietale ale stomacului (care secretă în egală măsură și acidul clorhidric) și este o glicoproteină cu masa moleculară 44.000 daltoni. În condiții normale, sucul gastric conține aproximativ 30 de unități ale factorului intrinsec/ml, o unitate fiind definită ca fiind egală cu cantitatea de F.I. capabilă să fixeze 1 ng vitamină B_{12}.

Complexul cobalamină-F.I. se fixează prin componenta sa proteică de receptori specifici situați în peretele ileonului terminal. Aici ei sînt disociați, iar cobalamina pătrunde în celulele intestinale. Procesele ce au loc la nivel enterocitar sînt puțin cunoscute, dar existența unui decalaj de 8 pînă la 12 ore între fixarea complexului cobalamină-F.I. pe receptorii ileonului și apariția cobalaminei în circulație, presupune existența unor reacții specifice. Vitamina B_{12} este apoi vehiculată de către sîngele portal.

Acest mecanism limitează la 2-3 mg cantiatea de cobalamină alimentară ce poate fi absorbită. După acest proces există o perioadă de 2-3 ore pînă ce o nouă doză de vitamină va penetra peretele intestinal. În cazul administrării orale de preparate vitaminice în doze mari, creșterea concentrației acesteia în lumenul intestinal poate determina și declanșarea unei absorbții pasive a cobalaminei în jur de 1 % din doza ingerată.

III.7.4.3. Circulația și repartiția tisulară a cobalaminei

Cobalaminele sînt vehiculate în organism sub formă legată de trei proteine specifice numite transcobalamine I, II, III.

Transcobalamina I (TC I) este o glicoproteina specifică ce leagă majoritatea cobalaminelor circulante. Cum forma predominantă sub care circulă Vitamina B_{12} este metilcobalamina (60-70 %), această glicoproteină va forma complecși de tipul metilcobalamină-TC I. Rolul fiziologic al acestei proteine complexe este puțin studiat. Se cunoaște doar că are o perioadă de înjumătățire mare, iar complecșii formați sînt greu disociabili. De aceea, vitamina B_{12} transportată sub această formă nu este disponibilă pentru celule.

Transcobalamina II (TC II) este o β-globulină plasmatică a cărei concentrație în sînge este de 15-20 μg/l și participă preponderent la transportul prin vena portă a vitaminei proaspăt absorbite, precum și la tansportul acesteia între diferite compartimente ale organismului. TC II mai este necesară și transportului intracelular al vitaminei B_{12}. Complexul TC II-B_{12} este recunoscut de receptorii membranari specifici care fixează acești complecși prin intermediul componentelor lor polipeptidice. În faza următoare fixării pe receptori, complecșii TC II-B_{12} pătrund în celulă prin edocitoză, transcobalamina este degradată de proteazele lizozomale, iar vitamina este eliberată în citosol.

După acest proces, cobalamina este transformată fie în metilcobalamină la nivelul citosolului, fie în adenozil-cobalamină la nivel mitocondrial. Metilcobalamina reprezintă coenzima pentru metioninsintetază, iar adenozilmetionina este coenzima metil-malonil-CoA mutazei mitocondriale.

Transcobalamina III (TC III) este o glicoproteină asemănătoare cu transcobalamina I și este sintetizată în granulocite. Complexul TC III-B_{12} este mult mai ușor disociabil decît complexul TC I-B_{12}, el dispărînd după cîteva minute de circulație. Se pare că transcobalamina I este cea care asigură transportul vitaminei B_{12} în țesutul hepatic și străbaterea peretelui hepatocitului.

Rezervele totale de cobalamină în organismul omului adult sînt estimate la 3-4 mg. O mare cantitata din rezerva de cobalamină este stocată în ficat. Alte organe și țesuturi sînt mai sărace în vitamină. Concentratia vitaminei B_{12} în sînge este estimată la 450 pg/ml, mai ales sub formă de metilcobalamină, în timp ce vitamina B_{12} tisulară este reprezentată în proporție de 70-80 % de adenozilcobalamină și 20-30 % de hidroxicobalamină.

III.7.4.4. Eliminarea vitaminei B_{12} din organism

Cobalamina se elimină din organism prin bilă, urină, diferite secreții și celule descuamate. S-a pus în evidență existenta unui ciclu enterohepatic

major. Cantitatea de cobalamină din bilă oscilează între limite foarte largi (90-11.000 pg/ml) dar ea este reabsorbită aproape în totalitate la nivelul ileonului. La adultul hrănit în condiții normale, cu o dietă echilibrată, cantitatea totală de vitamină B_{12} eliminată zilnic este de aproximativ 2 μg.

Cobalamina liberă este absentă în sînge și în alte compartimente ale organismului. De aceea ea este filtrată la nivel glomerular și eliminată prin urină fără reabsorbție tubulară. O anumită cantitate de cobalamină se elimină în mod obligatoriu prin fecale, atît la bolnavii cu anemie pernicioasă cît și la subiecții sănătoși. Această cobalamină este reprezentată de vitamina sintetizată de flora microbiană intestinală.

III.7.5. Rolul biologic al cobalaminei

III.7.5.1. Enzime cobalamin-dependente

Vitamina B_{12} joacă rol de cofactor pentru unele enzime ce participă la două tipuri diferite de recții de transmetilare în care cofactorul enzimatic este metilcobalamina și reactii de izomerizare la care participă adenozil-cobalamina. În organismul uman au loc doar două reacții în care este implicată cobalamina: metilarea homocisteinei cu formare de metionină și respectiv izomerizarea metil-malonil-CoA cu formare de succinil-CoA.

a) Metilarea homocisteinei în metionină este în același timp cobalamin- și folat-dependentă (figura 12). Procesul constă în biosinteza metioninei din homocisteină prin transferul unei grupări metilice, sub acțiunea 5-metil-tetrahidrofolat-homocistein-metil-transferazei. În această reacție, rolul cobalaminei constă în acceptarea radicalului metil cu formare de metil-cobalamină. Donorul acestei grupări este S-adenozil-metionina, iar cobalamina suferă concomitent două transformări: reducere și metilare. În etapa următoare radicalul metil este cedat de metil-cobalamină homocisteinei.

b)Izomerizarea metil-malonil-CoA este o reactie catalizată de metil-malonil-CoA-mutază, o enzimă adenozil-cobalamin-dependentă. Metil-malonil-CoA este un produs intermediar al catabolismului valinei, izoleucinei, metioninei și treoninei. În urma procesului de izomerizare se formează succinil-CoA care intră în ciclul acizilor tricarboxilici (schema 3)..

Participarea cobalaminei la această reacție este confirmată și de faptul că în carența de vitamină B_{12} are loc o blocare a acestei transformări, iar acidul metil-malonic se acumulează în sînge, fiind eliminat pe cale renală. Evaluarea cantității de metil-malonat în urină stă, de altfel, la baza uneia din testele de determinare a hipovitaminozei B_{12}.

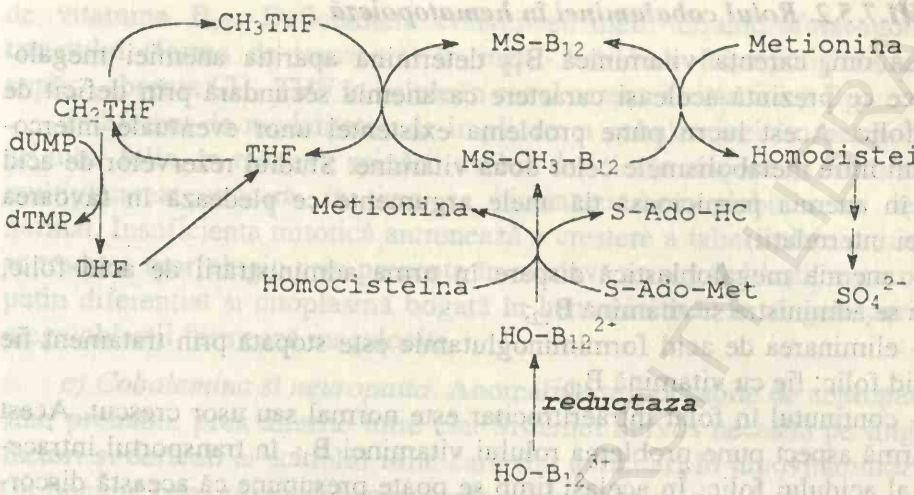
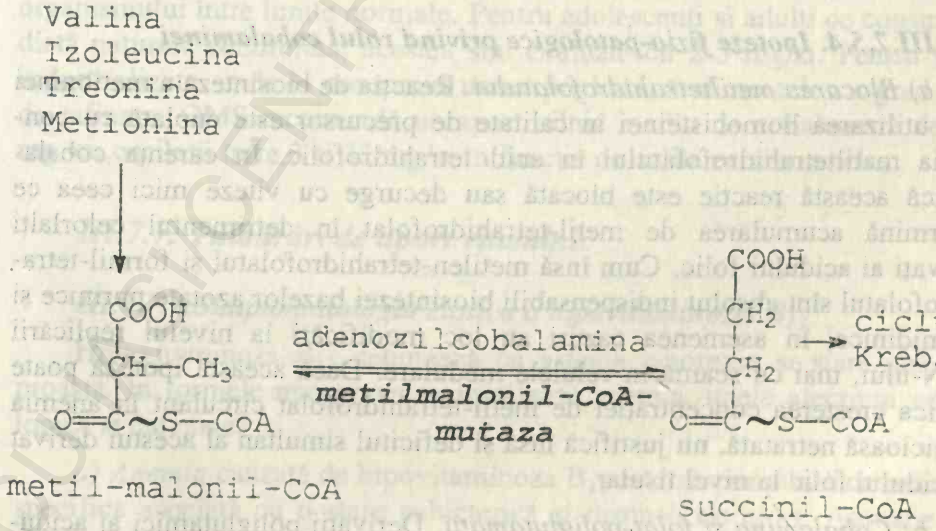


Figura 12. *Mecanismul metilării homocisteinei*

CH_3THF- metiltetrahidrofolat
CH_2THF- metilentetrahidrofolat
THF- acid tetrahidrofolic
DHF- acid dihidrofolic
S-Ado-Met- S-adenizil-metionină
S-Ado-HC- S-adenozil-homocisteină
HO-B_{12}- hidroxicobalamină
MS- metionin-sintetază (sau 5- metiltetrahidrofolat-homocistein-metil-transferază



Schema 3. *Izomerizarea metil-malonil-CoA*

III.7.5.2. Rolul cobalaminei în hematopoieză

La om, carența vitaminică B_{12} determină apariția anemiei megaloblastice ce prezintă aceleași caractere ca anemia secundară prin deficit de acid folic. Acest lucru pune problema existenței unor eventuale interconexiuni între metabolismele celor două vitamine. Studiul rezervelor de acid folic în anemia pernicioasă dă unele argumente ce pledează în favoarea acestei interrelații:

- anemia megaloblastică dispare în urma administrării de acid folic, fără a se administra și vitamină B_{12};
- eliminarea de acid formiminoglutamic este stopată prin tratament fie cu acid folic, fie cu vitamină B_{12};
- conținutul în folat intraeritrocitar este normal sau ușor crescut. Acest din urmă aspect pune problema rolului vitaminei B_{12} în transportul intracelular al acidului folic. În același timp se poate presupune că această discordanță este rezultatul utilizării defectuoase a acidului matiltetrahidrofolic în cazul carentei vitaminice B_{12}.

III.7.5.3. Rolul cobalaminei în sistemul nervos

În afară de anemia pernicioasă, carența în cobalamină mai determină la om instalarea neuropatiei. Aceasta constă într-o dereglare degenerativă a nervilor periferici, a cordoanelor laterale și posterioare ale măduvei spinării și chiar a creierului. Leziunile ce apar sînt determinate de procesul de demielinizare ce poate fi reversibil dacă se intervine cu un tratament specific precoce.

III.7.5.4. Ipoteze fizio-patologice privind rolul cobalaminei

a) Blocarea metiltetrahidrofolatului. Reacția de biosinteză a metioninei prin utilizarea homocisteinei în calitate de precursor este cuplată cu conversia matiltetrahidrofolatului în acid tetrahidrofolic. În carența cobalaminică această reacție este blocată sau decurge cu viteze mici ceea ce determină acumularea de metil-tetrahidrofolat în detrimentul celorlalți derivați ai acidului folic. Cum însă metilen-tetrahidrofolatul și formil-tetrahidrofolatul sînt absolut indispensabili biosintezei bazelor azotate purinice și pirimidinice, în asemenea cazuri au loc modificări la nivelul replicării ADN-ului, mai cu seamă în celulele medulare. Dacă această ipoteză poate explica creșterea concentrației de metil-tetrahidrofolat circulant în anemia pernicioasă netratată, nu justifică însă și deficitul simultan al acestui derivat al acidului folic la nivel tisular.

b) Cobalamina și folat-poliglutamații. Derivații poliglutamici ai acidului folic îndeplinesc rol de cofactori, a căror biosinteză poate fi dependentă

de vitamina B_{12}. Deficiențele conversiei metil-tetrahidrofolat-monoglutamatului (forma de transport) în metil- tetrahidrofolat-poliglutamat pot explica absența CH_3-THF în celule în cazul carenței vitaminice B_{12}.

Indiferent de modalitatea de implicare a cobalaminei în metabolismul acidului folic, în măduva spinării au loc deficiențe majore în maturarea și multiplicarea nucleară, în timp ce biosinteza hemoglobinei nu decurge normal. Insuficiența mitotică antrenează o creștere a taliei celulelor, ceea ce se traduce morfologic prin prezența în măduvă a megaloblaștilor cu nucleu puțin diferențiat și citoplasmă bogată în hemoglobină. În sîngele periferic, megaloblaștii formează megalocite.

c) Cobalamina și neuropatia. Anomaliile responsabile de neuropatie nu sînt, probabil, prea diferite între ele. Sistemul nervos necesită pe lîngă alți factori și derivați ai acidului folic care sînt deficitari în hipovitaminoza B_{12} (în lichidul cerebrospinal concentrația acidului folic și a derivaților săi este de aproximativ trei ori mai mari decît în sînge).

d) Cobalamina și imunitatea. Absența biosintezei de anticorpi observată în carența vitaminică B_{12} este legată de imposibilitatea producerii clonelor limfoide necesare stimulării răspunsului imun.

III.7.6. Necesarul de cobalamină

Necesitățile zilnice ale omului în vitamină B_{12} sînt considerate a fi echivalente cu cantitatea de cobalamină ce compensează pierderile normale datorate eliminării prin urină și bilă în așa fel încît să se mențină rezervele organismului între limite normale. Pentru adolescenți și adulți ce consumă o dietă naturală echilibrată, acestea sînt evaluate cu 2-5 mg/zi. Pentru țările industrializate, unde în consumul uman predomină alimentele cu grad înalt de rafinare, OMS recomandă un aport zilnic mediu de cobalamină de 4-7 mg, cu oscilații între 3 și 32 mg/zi în funcție de calitatea alimentelor.

III.7.7. Tulburări de aport vitaminic

III.7.7.1.Simptomatologia clinică a hipovitaminozei B_{12}

Hipovitaminoza B_{12} debutează cu astenie, anorexie și stare generală proastă. În formele mai grave se instalează anemia, unele afecțiuni neurologice și cutanate.

a) Anemia cauzată de hipovitaminoza B_{12} este responsabilă de paloarea specifică asociată cu o stare subicterică și dispnee de efort. Aproape totdeauna este prezentă și o simptomatologie cardiacă prin suflu sistolic simplu

sau, în formele mai grave, insuficiență cardiacă. Anemia reprezintă simptomul ce poate decela hipovitaminoza B_{12}precoce.

b) Afecțiunile neurologice. Dintre afecțiunile neurologice, cea mai frecventă este neuropatia, în insuficiența prelungită de cobalamină. Este vorba de o neuropatie senzitivă bilaterală simetrică cu parestezii ce debutează la nivelul membrelor inferioare. La început intermitentă, ea devine permanentă extinzîndu-se progresiv la nivelul abdomenului și mai rar la antebrațe. Acest tip de neuropatie se manifestă clinic și prin scăderea sensibilității superficiale și profunde.

Dereglările psihice sînt frecvente și constau în pierderea memoriei, iritabilitate, stări depresive. Hipovitaminoza B_{12} determină foarte rar manifestări psihiatrice severe.

c) Afecțiunile cutanate, observate în hipovitaminoza B_{12}, sînt determinate prin glosită care se manifestă prin dureri ale limbii. Acest simptom este precedat de apariția unor plăgi eritematoase netede și uscate la nivelul limbii.

În afară de paloarea caracteristică, se observă o pigmentare anormală a pielii, căderea părului și albirea precoce a acestuia.

III.7.7.2. Simptomatologia hematologică a hipovitaminozei B_{12}

În carența cobalaminică se observă mai întîi creșterea taliei eritrocitelor, uneori acesta rămînînd mai multe luni sau chiar ani singurul simptom hematologic. Prelungirea stării de avitaminoză conduce apoi la anemie pernicioasă și leucotrombopenie. Acest lucru se întîmplă în anemia profundă ($<2x10^6/mm^3$) care este însoțită de trombopenie și leucopenie ($GB<3000x10^3/mm^3$ cu hipersegmentarea neutrofilelor și apariția de metamielocite gigant. Din punct de vedere biochimic se poate observa hiperbilirubinemie neconjugată secundară datorată hemolizei intramedulare. La nivel medular se observă megaloblastoză, cromatină punctiformă, metamielocite cu nucleu vacuolar etc.

III.7.7.3. Maladii metabolice ereditare

Metabolismul intracelular al vitaminei B_{12} include etapele de activare a hidroxicobalaminei cu formarea coenzimelor metil-malonil-CoA-mutazei și metionin-sintetazei. Diferitele etape ale acestor transformări au fost puse în evidență mai întîi la bacterii, apoi în țesutul hepatic și în final în fibroblaștii umani.

Biosinteza adenozil-cobalaminei este bine studiată, ea avînd loc în mitocondrii unde, după două etape de reducere sub acțiunea reductazelor specifice, are loc adenozilarea în prezență de ATP. Biosinteza metilco-

balaminei este mai puțin cunoscută. Ea are loc în citoplasmă necesitînd, de asemenea, reducera cobalaminei-Co(III) în cobalamină-Co(II). Metil-cobalamina se formează apoi într-o reacție cuplată cu o metilare reductivă, în prezența metionin-sintetazei.

III.7.8. Ativitamine B_{12}

Studiul antagoniștilor cobalaminei este complicat datorită faptului că acțiunea lor biologică este puternic influențată de condițiile în care acționează substanța cercetată. Una și aceeași substanță poate exercita, într-un anumit sistem de testare, o acțiune vitaminică, iar în alt sistem acțiune antivitaminică. În cercetările pe culturi microbiene, același compus în concentrații mari poate inhiba creșterea microorganismelor, iar în concentrații mici o poate activa. Cu toate acestea, au fost identificate substanțe cu activitate antivitaminică B_{12} ce pot fi împărțite în două grupe:

-omologi structurali ai vitaminei B_{12} care se obțin prin transformarea resturilor de propilamidă din molecula cobalaminei în derivați substituiți la nivelul funcției amidice. Din această grupă fac parte și corionidele lipsite de atomul central de cobalt, care manifestă o activitate antivitaminică pronunțată;

-heterologii structurali, a căror acțiune antivitaminică se bazează pe mecanisme încă insuficient studiate. Aceștia pot împiedica absorbția vitaminei la nivelul tractului gastrointestinal sau transportul prin membranele celulare.

BCU IAȘI CENTRAL LIBRARY

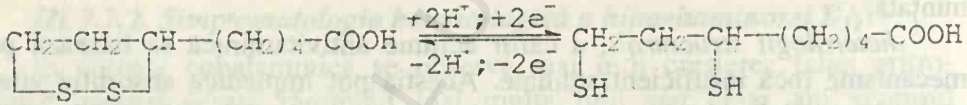
III.8. ACIDUL LIPOIC (ACIDUL TIOCTIC)

III.8.1. Generalități

Acidul lipoic a fost descoperit în 1941 concomitent în mai multe laboratoare. Inițial s-a observat că el este un factor de creștere pentru protozoarul *Tetrahymana geleii*, apoi factor ce înlocuiește acidul acetic necesar creșterii celulelor de *Lactobacillus casei*, sau care stimulează creșterea la *Streptococcus lactis*. Cercetări ulterioare au arătat că factorul respectiv este acidul 6,8-ditio-n-octanoic care a fost denumit acid α-lipoic.

III.8.2. Structura chimică și proprietățile acidului lipoic

Datorită prezenței celor două grupe -SH în moleculă, acidul lipoic poate exista sub două forme structurale:



acid α-lipoic (forma oxidata)

acid α-lipoic (forma redusa)

Prezența unui atom de carbon asimetric conferă acidului lipoic izomerie optică. Dintre cei doi antipozi optici, doar izomerul dextrogir prezintă activitate biologică.

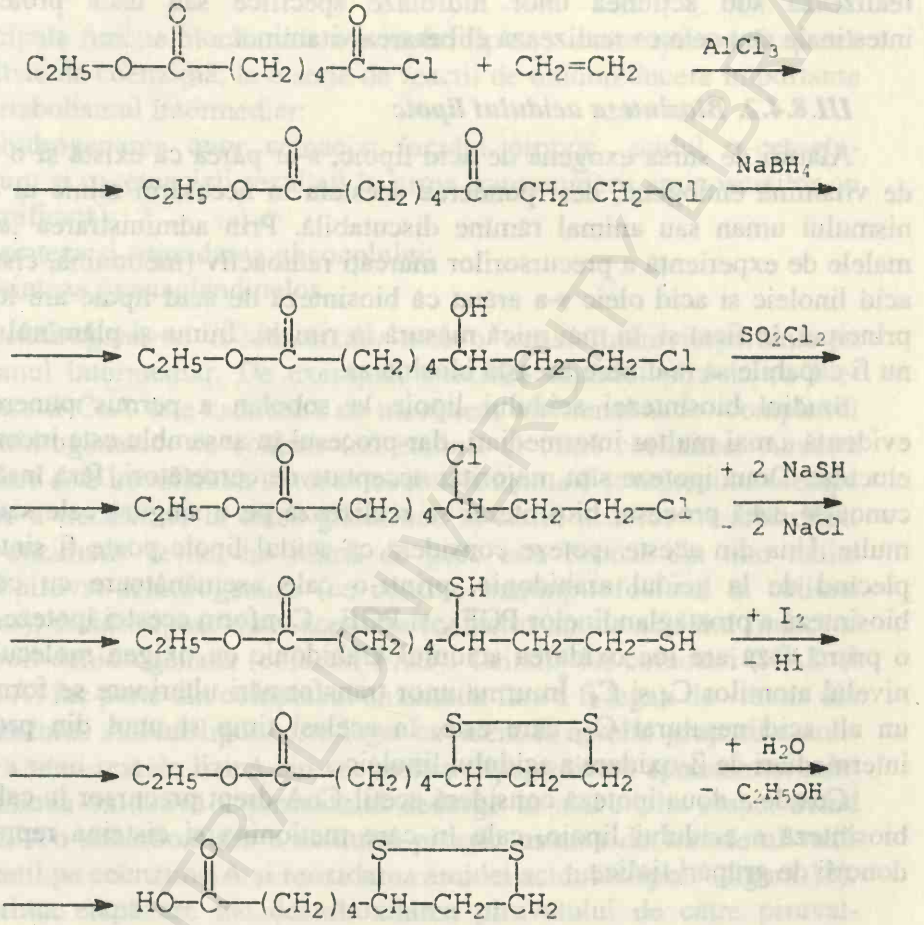
Forma oxidată a acidului lipoic este o substanță galbenă, cu absorbție caracteristică la 335 nm, condiționată de prezența heterociclului pentaatomic. În natură, acidul lipoic nu se găsește liber în țesuturile vegetale, animale și în microorganisme, ci sub formă de disulfid, dimercapto sau mono-S-acil-mono-mercapto.

III.8.3. Sinteza chimică a acidului lipoic

Datorită structurii sale chimice relativ simple, acidul lipoic poate fi sintetizat chimic prin mai multe metode, în care se utilizează atît substanțe alifatice cît și aromatice. Cel mai adesea, pentru sinteza acidului α-lipoic

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

racemic, se utilizează esterul etilic al clorurii de adipil și etena:



III.8.4. Metabolismul acidului lipoic

Metabolismul acidului lipoic și în special absorbția la nivel intestinal, transportul și repartiția tisulară sînt incomplet elucidate la om.

III 8.4.1. Absorbția intestinală

Organismul uman ia acidul lipoic necesar proceselor sale metabolice din alimentele de origine animală și vegetală. Mecanismul absorbției intestinale a acidului α-lipoic este puțin cunoscut. Cum în natură, această vitamină nu se găsește în stare liberă ci sub formă legată cu proteinele, este imperios necesar ca în tubul digestiv să aibă loc mai întîi eliberarea lipo-

BCU IASI CENTRALA UNIVERSITARA

atului din acești complecși. Nu se cunoaște cu precizie dacă acest proces se realizează sub acțiunea unor hidrolaze specifice sau dacă proteazele intestinale sînt cele ce realizează eliberarea vitaminei.

III.8.4.2. Biosinteza acidului lipoic

Alături de sursa exogenă de acid lipoic, s-ar părea că există și o sursă de vitamină endogenă, deși ponderea acesteia în necesarul zilnic al organismului uman sau animal rămîne discutabilă. Prin administrarea la animalele de experiență a precursorilor marcați radioactiv (metionină, cisteină, acid linoleic și acid oleic s-a arătat că biosinteza de acid lipoic are loc, în principal, în ficat și, în mai mică măsură în rinichi. Inima și plămînul par a nu fi capabile să realizeze această biosinteză.

Studiul biosintezei acidului lipoic la șobolan a permis punerea în evidență a mai multor intermediari, dar procesul în ansamblu este incomplet elucidat. Două ipoteze sînt majoritar acceptate de cercetători, fără însă a se cunoaște dacă procesul biosintezei se realizează pe o singură cale sau mai multe. Una din aceste ipoteze consideră că acidul lipoic poate fi sintetizat plecînd de la acidul arahidonic, printr-o cale asemănătoare cu cea de biosinteză a prostaglandinelor PGF_{2x} și PGE_2. Conform acestei ipoteze, într-o primă fază are loc oxidarea acidului arahidonic cu oxigen molecular la nivelul atomilor C_6 și C_8. În urma unor transformări ulterioare se formează un alt acid nesaturat C_{12} care este, în același timp și unul din produșii intermediari de β-oxidare a acidului linoleic.

Cea de a doua ipoteză consideră acetil-CoA drept precursor în calea de biosinteză a acidului lipoic, cale în care metionina și cisteina reprezintă donorii de grupări tiolice.

III.8.4.3. Catabolismul și eliminarea acidului lipoic

Diferite etape ale degradării acidului lipoic au fost studiate în urma injectării de ^{14}C-lipoat la șobolani, în care atomul de carbon marcat era fie în heterociclu (C_7 și C_8) fie la catena laterală (C_1 șiC_6). După 24 ore de la administrare, circa 56 % din radioactivitatea inițială este regăsită în urină. Prin utilizarea tehnicilor cromatografice s-au pus în evidență în urină doi produși de degradare a acidului lipoic. Aceștia rezultă în urma unui proces de degradare β-oxidativă, similar cu cel întîlnit la acizii grași. Într-o primă etapă a oxidării sînt eliminați atomii C_1 șiC_2 cu formarea acidului bisnorlipoic. Prin eliminarea atomilor de carbon C_3 și C_4 în etapa următoare ia naștere acidul tetranorlipoic care este unul din produșii de degradare ce se elimină pe cale renală. A mai fost identificat un produs de degradare ce conține nucleul heterociclic al vitaminei, foarte rezistent la transformările catabolice.

III.8.5. Rolul biologic al acidului lipoic

Principala funcție biochimică a acidului lipoic o constituie participarea sa, în calitate de coenzimă, la o serie de reacții de oxidoreducere importante pentru metabolismul intermediar:

- dehidrogenarea unor cetoacizi (acidul piruvic, acidul α-cetoglutaric,precum și α-cetoacizii rezultați în urma transaminării aminoacizilor cu catenă ramificată);
- biosinteza și degradarea glicocolului;
- biosinteza prostaglandinelor.

a) Dehidrogenarea α-cetoacizilor este o transformare importantă în metabolismul intermediar. De exemplu, oxidarea acidului piruvic cu formare de acetil-CoA este catalizată de un sistem multienzimatic -complexul piruvatdehidrogenazic- ce conține trei enzime și cinci coenzime. Această transformare este ireversibilă în toate țesuturile animale și reprezintă o etapă obligatorie a trecerii de la calea glicolitică la ciclul acizilor tricarboxilici. Sistemul enzimatic izolat din inimă de porc este format din mai multe subunități:piruvat-dehidrogenaza (ce conține tiaminpirofosfatul în calitate de cofactor), dihidrolipoat-trans-acetilaza (cofactor-amida acidului lipoic) și dihidrolipoil-dehidrogenaza (cofactor FAD). Ceilalți doi cofactori (NAD și coenzima A) fac parte din complexul enzimatic fără a fi legați de vreuna din cele trei enzime. Acidul lipoic este legat covalent la nivelul grupării ε-amino libere a unui rest de lizină din secvența polipeptidică a apoenzimei sale. Decarboxilarea oxidativă a piruvatului decurge în mai multe etape, având loc succesiv o decarboxilare a acidului piruvic urmată de transferul radicalului acetil pe coenzima A și reoxidarea amidei acidului lipoic (figura 13).

În prima etapă are loc decarboxilarea piruvatului de către piruvat-dehidrogenază cu formarea radicalului hidroxietil legat de tiaminpirofosfat. În etapa următoare, catalizată de dihidrolipoat-transacetilază, radicalul acetil este transferat la atomul de sulf de la C_6 al acidului lipoic, acesta trecînd din forma sa oxidată în cea redusă. În cea de a treia etapă are loc regenerarea lipoatului în forma sa oxidată prin transferul radicalului acetil la coenzima A, respectiv transferul atomilor de hidrogen la FAD.

O altă transformare importantă în metabolismul intermediar o constituie oxidarea acidului α-cetoglutaric cu formare de succinil CoA. Această reacție este ireversibilă în celulele animale și este catalizată de complexul enzimatic al α-cetoglutarat-dehidrogenazei.

Mecanismul de reacție este identic, fiind necesară prezența acelorași cofactori: TPP, coenzima A, NAD, FAD și acid lipoic. Complexul multienzimatic al α-cetoglutarat-dehidrogenazei este asemănător din punct de vedere structural cu complexul piruvat-dehidrogenazic.

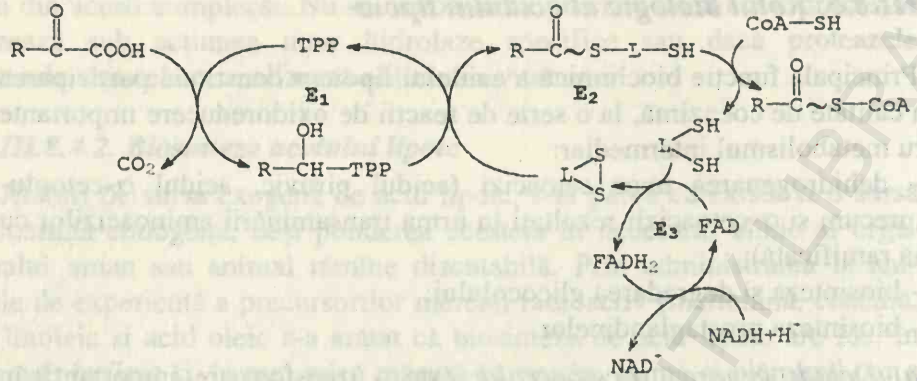


Figura 13. Decarboxilarea oxidativa a acidului piruvic
E - piruvat-dehidrogenaza
E - dihidrolipoat-transacetilaza
E - dihidrolipoat-dehidrogenaza
TPP - tiaminpirofosfat

- forma oxidata a acidului lipoic

- forma redusa a acidului lipoic

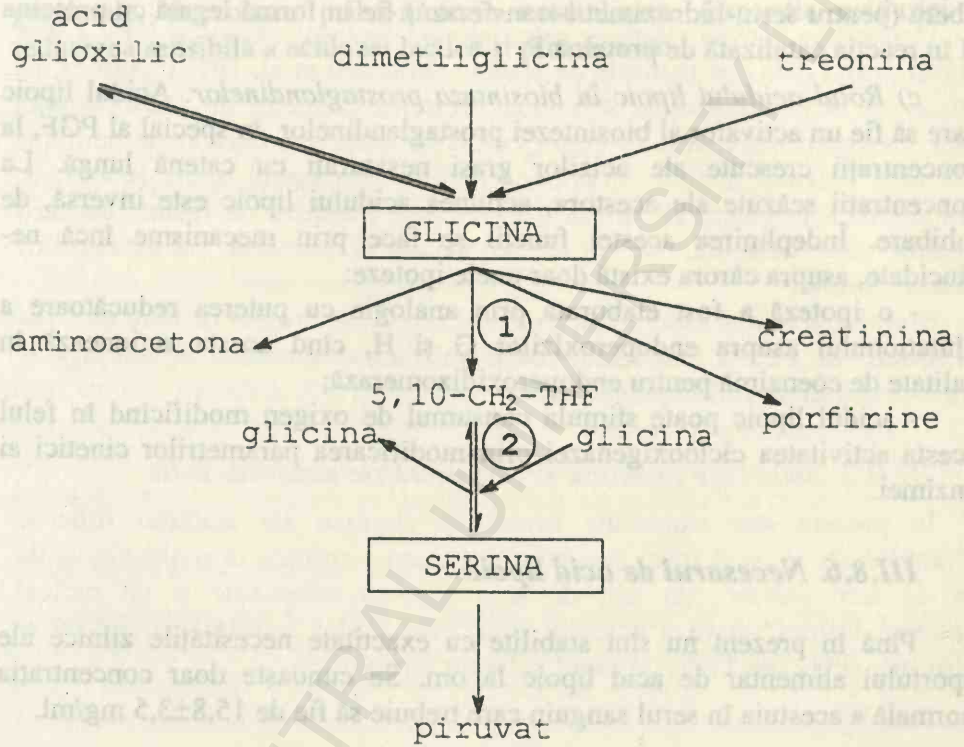
b) Rolul acidului lipoic în gluconeogeneză. În afară de rolul de cofactor jucat în reacțiile de degradare oxidativă a α-cetoacizilor, acidul lipoic mai joacă un rol important în metabolismul glucidic. Studiul acestei funcții a fost declanșat după ce s-a observat că o creștere a concentrației acidului lipoic determină o accelerare a consumului de glucoză. S-a mai observat că activarea glicolizei este cauzată de diminuarea cantității de acetil-CoA liberă. Această scădere a nivelului celular de acetil-CoA antrenează o scădere a concentrației citratului, care, la rîndul lui conduce la o activare a fosfofructokinazei.

Pe de altă parte, biosinteza glucozei din șase substrate importante (piruvat, alanină, glicerină, dihidroxiacetonă, lactat și fructoză) este inhibată de acidul lipoic, gradul de inhibiție fiind dependent de concentrația acestei vitamine. Acidul lipoic este capabil să stocheze acetil-CoA în mitocondrii sub forma complexă, din care cauză concentrația de acetil-CoA liberă este foarte mică. De aceea are loc o încetinire a tuturor secvențelor metabolice în care este implicată acetil-CoA, în principal ciclul acizilor tricarboxilici, biosinteza acizilor grași și gluconeogeneza.

c) Rolul acidului lipoic în metabolismul glicocolului. Glicina este un aminoacid neutru neesențial a cărui degradare are loc, în principal, prin

două căi:

- reacția de clivare a glicinei catalizată de un complex multienzimatic ce conține patru proteine (notate P, H, L și T) și numeroase coenzime printre care și acidul lipoic;
- interconversia serină-glicină:



Echilibrul reacției (2) este deplasat în sensul formării glicocolului, constituind principala cale de biosinteză a acestui aminoacid, reacția fiind catalizată de serin-hidroximetil-transferază. Printre celelalte reacții de biosinteză se numără și degradarea ireversibilă a treoninei în glicină și acetaldehidă sub acțiunea glicinogenazei. Dimetil-glicina este demetilată în sarcozină care, la rîndul ei suferă o nouă demetilare cu formare de glicină. Acidul glioxilic poate fi transaminat în glicină sub acțiunea unor aminotransferaze specifice ce utilizează fie alanina, fie glutamatul drept sursă de grupări aminice. Și această reacție reversibilă funcționează cu preponderență în sensul formării glicinei.

Serin-hidroximetil-transferaza este o enzimă cu specificitate redusă putînd cataliza un număr mare de transformări ale aminoacizilor și necesită piridoxalfosfatul în calitate de cofactor. În prezența acidului lipoic, această

enzimă mai poate cataliza și o reacție de decarboxilare. Această reacție, cu totul excepțională, a fost studiată *in vitro* prin utilizarea glicinei în calitate de substrat. În condițiile experimentului, serin-hidroximetil-transferaza pare să mimeze rolul proteinei P din complexul multienzimatic specific clivării glicocolului și s-ar părea că ambele conțin piridoxal-fosfatul în calitate de coenzimă. Ambele enzime necesită prezența acidului lipoic, fie în stare liberă (pentru serin-hidroximetil-transferază) fie în formă legată cu proteina H în reacția catalizată de proteină P.

c) Rolul acidului lipoic în biosinteza prostaglandinelor. Acidul lipoic pare să fie un activator al biosintezei prostaglandinelor, în special al PGF, la concentrații crescute ale acizilor grași nesaturați cu catenă lungă. La concentrații scăzute ale acestora, acțiunea acidului lipoic este inversă, de inhibare. Îndeplinirea acestei funcții se face prin mecanisme încă neelucidate, asupra cărora există doar unele ipoteze:

- o ipoteză a fost elaborată prin analogie cu puterea reducătoare a glutationului asupra endoperoxizilor G și H, cînd acesta acționează în calitate de coenzimă pentru endoperoxidizomerază;
- acidul lipoic poate stimula consumul de oxigen modificînd în felul acesta activitatea ciclooxigenazei prin modificarea parametrilor cinetici ai enzimei.

III.8.6. Necesarul de acid lipoic

Pînă în prezent nu sînt stabilite cu exactitate necesitățile zilnice ale aportului alimentar de acid lipoic la om. Se cunoaște doar concentrația normală a acestuia în serul sanguin care trebuie să fie de 15,8±3,5 mg/ml.

III.8.7. Tulburări de aport vitaminic

Simptomele clinice ale hipovitaminozei pot să apară fie ca urmare a dereglării metabolismului acidului lipoic fie modificărilor în activitatea enzimelor lipoat-dependente. Dereglarea metabolismului acidului lipoic, indiferent de nivelul la care are loc, va perturba derularea normală a reacțiilor catalizate de cei trei complecși enzimatici lipoat-dependenți: piruvat-dehidrogenaza, α-cetoglutarat-dehidrogenaza și dehidrogenazele aminoacizilor cu catenă ramificată. Un exemplu concludent în acest sens îl constituie o anomalie genetică ce constă într-un deficit în dihidrolipoil-dehidrogenază care anulează posibilitatea reoxidării acidului lipoic utilizat în reacțiile de oxidare a α-cetoacizilor. Cum această enzimă este comună tuturor celor trei complecși multienzimatici, această anomalie se manifestă

prin acidoză lactică (stoparea oxidării piruvatului în acetil-CoA conduce la acumularea de lactat), leucinoză (acumulare de aminoacizi cu catene ramificate) și respectiv acidurie α-cetoglutarică.

Prin administrarea de acid lipoic în doze zilnice de 200 mg la copii cu deficit congenital al enzimelor lipoat-dependente s-a observat o modificare importantă din punct de vedere clinic: normalizarea creșterii staturo-ponderale, dezvoltare psiho-motorie normalizată, dispariția acidurie și reducerea sensibilă a acidozei lactice și piruvice etc.

BCU IAȘI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

III.9. ACIDUL FOLIC (ACIDUL PTEROILGLUTAMIC, VITAMINA M)

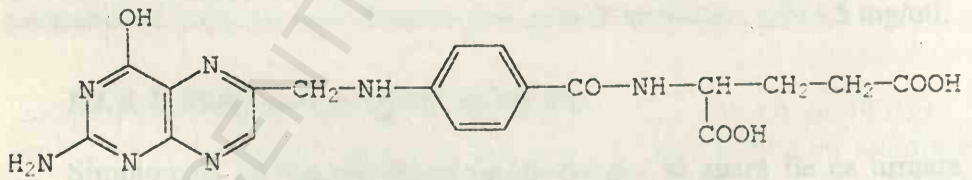
III.9.1. Generalități

Denumirea acestei vitamine este datorată faptului că acidul folic a fost obținut prima data din frunzele de spanac (Mitchell et al.,1911). Autorii au obținut un factor capabil să stimuleze creșterea celulelor de *Lactobacillus casei.* Cercetări ulterioare au arătat că există numeroși derivați ai acidului folic care prezintă acțiune vitaminică pentru organismul uman și animal. Unii dintre acești derivați diferă între ei prin numărul de resturi de acid glutamic din moleculă, iar alții prin natura și numărul substituienților acidului pteroic.

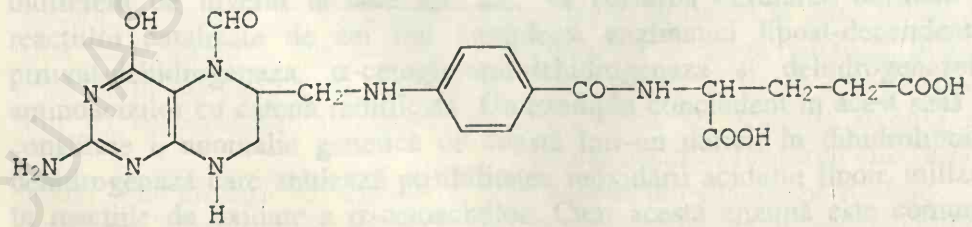
Mai tîrziu acidul folic a fost extras și din ficat, drojdia de bere etc. Tot din drojdia de bere a fost izolat compusul numit "vitamina B_c conjugată" care este acidul pteroil-heptaglutamic.

III.9.2. Structura chimică și proprietățile acidului folic

În prezent sînt cunoscute formulele chimice ale acidului folic și derivaților săi. Acidul folic, sau pteroil-glutamic conține în molecula sa un rest de acid pteroic, un rest de acid para-aminobenzoic și un radical glutamat. Forma activă a acidului folic este acidul 5-formil-5,6,7,8-tetrahidrofolic (FH_4 sau THF) denumit și factor citrovorum:



Acid folic



Acid formil-tetrahidrofolic

BCU IASI/CENTRUL DE CARTE

Acidul folic este o substanță cristalină, de culoare galben-portocalie. Se descompune fără topire la 250°C, este solubil în apă și în soluții acide sau bazice.

III.9.3. Stare naturală

Acidul folic este relativ larg răspîndit în natură, atît în țesuturile vegetale cît și animale. Dintre alimentele de origine vegetală cele mai bune surse de acid folic pentru om sînt spanacul, pîinea, morcovii, tomatele, fasolea, varza etc. iar dintre alimentele de origine animală cele mai bune surse sînt ficatul, gălbenușul de ou, carnea de vițel, laptele etc.

III.9.4. Metabolismul acidului folic

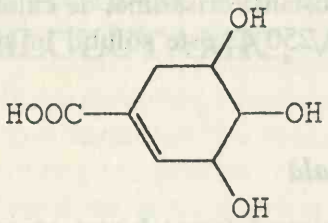
În procesul de biosinteză a acidului folic de către microorganisme și plante au loc transformări tipice pentru fiecare etapă în parte corespunzătoare biosintezei nucleului pteridinic, a acidului p-aminobenzoic, a acidului pteroic și a acidului folic în ansamblu. Pentru nici una din aceste etape însă, nu sînt cunoscute pe deplin secvențele metabolice ce au loc.

III.9.4.1. Biosinteza ciclului pteridinic

Acest proces are loc prin utilizarea în calitate de precursor a unui compus purinic sau un intermediar al metabolismului bazelor purinice. În cercetări efectuate pe *Crithidia fasciculata* s-a observat că 2,4,5-triamino-hidroxipirimidina poate înlocui biopterina ca factor de creștere. Totodată s-a mai observat că adăugarea de purine la germenii de grîu, accelerează procesul de biosinteză a acidului folic. Cu ajutorul adeninei marcate s-a demonstrat că această bază azotată este încorporată în pteridine de către specii ale genului *Corynebacterium*, iar extractele acelulare de *Escherichia coli* convertesc guanozina și guanozin-nucleotidele în acid folic. În fine s-a mai arătat că 2-hidroxipurina și glioxalul dau reacție de condensare chimică la 37°C pentru a forma pteridina, postulîndu-se un mecanism asemănător și pentru sinteza *in vivo*.

III.9.4.2. Biosinteza acidului p-aminobenzoic

Precursorul comun în biosinteza acidului p-aminobenzoic și a amino-acizilor proteinogeni aromatici este acidul shikimic:



Acid shikimic

Davis arată că acidul shikimic poate înlocui acidul p-aminobenzoic ca factor de creștere la *Escherichia coli* și alte microorganisme. În ultimul timp s-a stabilit că procesul de biosinteză a acidului p-aminobenzoic nu se realizează direct din acidul shikimic ci din shikimat-5-fosfat și glutamină și are loc cu consum de energie din ATP.

III.9.4.3. Biosinteza acidului pteroic și acidului folic

S-a demonstrat că într-un mediu conținînd p-aminobenzoil-glutamat și 2-amino-4-hidroxipteridin-6-carboxialdehidă, extractele acelulare de *Escherichia coli* pot sintetiza acidul folic și că acest proces necesită prezența ATP-ului, NADH-ului și ionilor de Mg^{2+}. Date experimentale similare au fost obținute și cu alte culturi microbiene. S-a postulat existența unui intermediar pirofosforilat al pteridinei ca precursor imediat în reacția de condensare cu p-aminobenzoil-glutamatul.

La rîndul lui p-aminobenzoil-glutamatul este sintetizat în prezența ATP-ului și a CoA cu formarea unui intermediar.

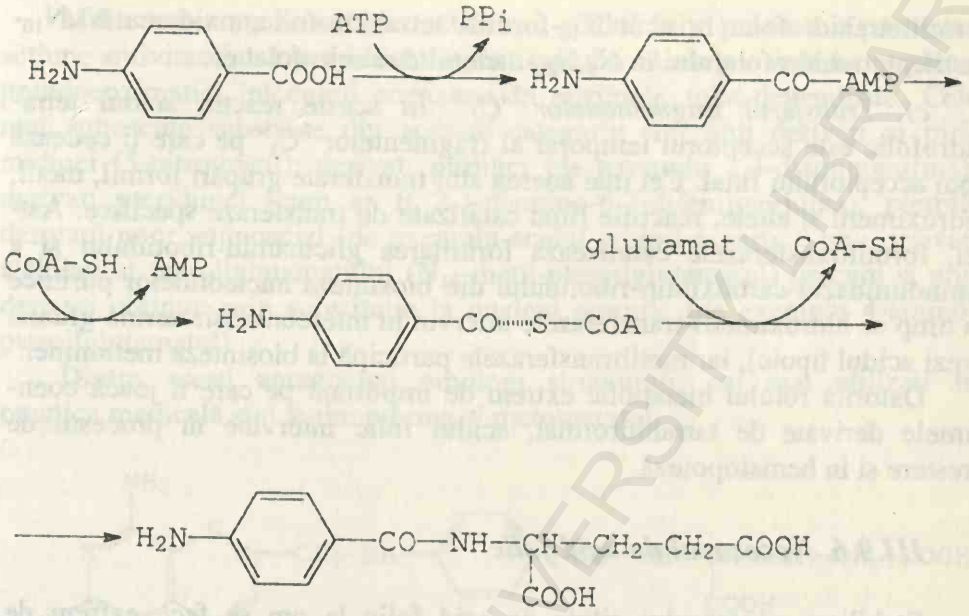
În extractele de *Lactobacillus plantarum* și *Escherichia coli* s-a demonstrat următoarea secvență din calea de biosinteză a acidului folic:

1) pteridină redusă + p-aminobenzoat + ATP + Mg^{2+} —> acid pteroic;

2) acid pteroic + glutamat —> acid folic.

În aceleași extracte s-a obținut acidul folic și atunci cînd s-a folosit p-aminobenzoil-glutamatul în calitate de precursor.

Din punct de vedere al catabolismului acidului folic, se pare că molecula acestuia este scindată în unitățile sale componente, acest lucru fiind confirmat și de prezența în urină a xantopterinei ca produs de degradare a restului pteridinic.



p-aminobenzoil-glutamat

III.9.5. Rolul biologic al acidului folic

Principala funcție a acidului folic o reprezintă participarea sa, în calitate de coenzimă, în reacțiile de transfer a grupelor "C_1". Principalele coenzime derivate de la acidul tetrahidrofolic (THF sau FH_4) sînt: acidul 5-formil-5,6,7,8-tatrahidrofolic, acidul 10-formil-5,6,7,8-tetrahidrofolic, acidul 5,10-metilen-5,6,7,8-tatrahidrofolic, acidul 5-formimino-5,6,7,8-tetrahidrofolic și acidul 5-metil-5,6,7,8-tetrahidrofolic.

Acești derivați îndeplinesc rol de cofactori ai enzimelor ce catalizează următoarele tipuri de reacții:

a). Formarea și activarea unor compuși conținînd fragmente C_1, printre care activarea acidului formic prin formarea N_{10}-formil-tetrahidrofolatului, activarea formaldehidei cînd se formează N_5,N_{10}-metilentetrahidrofolatul, transferul grupării formimino de la formiminoglicină la acidul glutamic cu formarea în calitate de intermediar a N_5-formimino-tetrahidrofolatului etc.

b). Interconversia acizilor "C_1"-folici. Printre reacțiile mai importante din acest punct de vedere se numără transformarea N_5-formiminotetrahidrofolatului în N_5,N_{10}-metilentetrahidrofolat, conversia acidului N_5-

formiltetrahidrofolic în acid N_{10}-formil- tetrahidrofolic, oxidarea N_5,N_{10}-metilentetrahidrofolatului în N_5,N_{10}-meteniltetrahidrofolat etc.

c). Transferul fragmentelelor "C_1". În aceste reacții, acidul tetrahidrofolic este acceptorul temporar al fragmentelor "C_1" pe care îi cedează apoi acceptorului final. Cel mai adesea sînt transferate grupări formil, metil, hidroximetil și altele, reacțiile fiind catalizate de transferaze specifice. Astfel, formiltransferazele catalizează formilarea glicinamid-ribotidului și a aminoimidazol-carboximin-ribotidului din biosinteza nucleotidelor purinice în timp ce hidroximetil-transferazele intervin în interconversia serină-glicină (vezi acidul lipoic), iar metiltransferazele participă la biosinteza metioninei.

Datorită rolului metabolic extrem de important pe care îl joacă coenzimele derivate de tatrahidrofolat, acidul folic intervine în procesul de creștere și în hematopoieză.

III.9.6. Necesarul de acid folic

Stabilirea necesarului zilnic de acid folic la om se face extrem de dificil, pe de o parte datorită faptului că această vitamină este întîlnită în marea majoritate a alimentelor de origine vegetală și animală, iar pe de altă parte deoarece flora microbiană intestinală asigură cantități relativ mari de acid folic. Cu toate acestea la adulți se consideră ca fiind necesar un aport zilnic de 0,5-1,0 mg, iar în perioada de sarcină sau alăptare de circa 10 ori mai mare.

III.9.7. Tulburări de aport vitaminic

La animalele de laborator, carența de acid folic poate fi provocată fie printr-o dietă adecvată, fie prin administrare de sulfamide care distrug flora microbiană a tractului digestiv producătoare de acid folic.

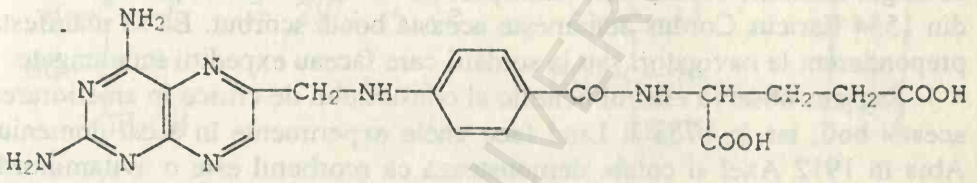
Principalele simptome ale avitaminozei constau în tulburări de creștere la organismele tinere și dereglarea hematopoiezei care determină anemia hipercromă macrocitară.

III.9.8. Substanțe cu acțiune antagonistă acidului folic

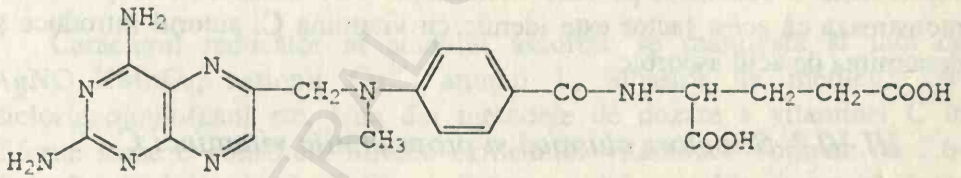
Substanțele cu acțiune antagonistă acidului folic sînt compuși cu o structură chimică diferită, unii dintre ei fiind foarte importanți din punct de vedere terapeutic. Astfel sulfamidele, larg utilizate în medicină, sînt substanțe care intervin în procesul de biosinteză a acidului folic blocînd unele etape ale căilor biosintetice.

Multe substanțe înrudite structural cu acidul folic prezintă o puternică acțiune antivitaminică în special datorită faptului că ele pot forma complecși pseudoenzimatici înlocuind coenzima în enzimele folat-dependente. Cele mai cunoscute substanțe din această categorie sînt unii derivați ai pirimidinei (5-nitrouracil), derivați purinici (de exemplu 2,4-diaminopurina), derivați pteridinici (cum ar fi 2,4-diamino-6,7-difenilpteridina), pteroil-derivații unor aminoacizi (de exemplu acidul pteroil-aspartic), unii derivați alchilați ai pteroilglutamatului (N_{10}-metil-pteroilglutamatul) precum și unii deriavți obținuți prin substituție la nucleul pterinic (de exemplu 4-amino-pteroilglutamatul).

Dintre acești antagoniști omologi structurali, cei mai utilizați în practica medicală sînt aminopterina și metotrexatul.



aminopterina



metotrexat

III.10. VITAMINA C
(ACID ASCORBIC, VITAMINA ANTISCORBUTICĂ)

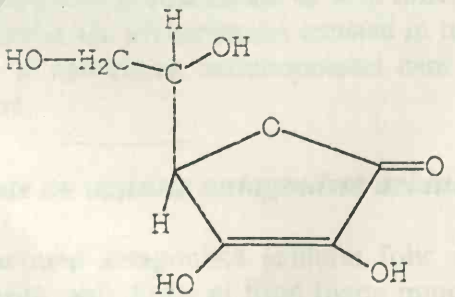
III.10.1. Generalități

De foarte mult timp era cunoscută o boală ce se manifesta prin hemoragii gingivale și subcutanate, scăderea rezistenței la infecții etc. S-a observat că această boală apărea la persoanele care consumau timp îndelungat alimente conservate, fără aport de fructe și legume proaspete. Încă din 1534 Earicus Cordus denumește această boală scorbut. Ea se manifesta preponderent la navigatori sau la soldații care făceau expediții îndelungate.

Panseus observă efectul benefic al consumului de citrice în ameliorarea acestei boli, iar în 1753 J. Lind face unele experimente în acest domeniu. Abia în 1912 Axel și colab. demonstează că scorbutul este o avitaminoză, iar von Drummond propune în 1920 denumirea de *vitamină C* pentru factorul antiscorbutic. În perioada 1928-1932 Szent Gyorgy izolează din suprarenale o substanță pe care o numește acid hexuronic. După ce demonstrează că acest factor este identic cu vitamina C, autorul introduce și denumirea de acid ascorbic.

III.10.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei C

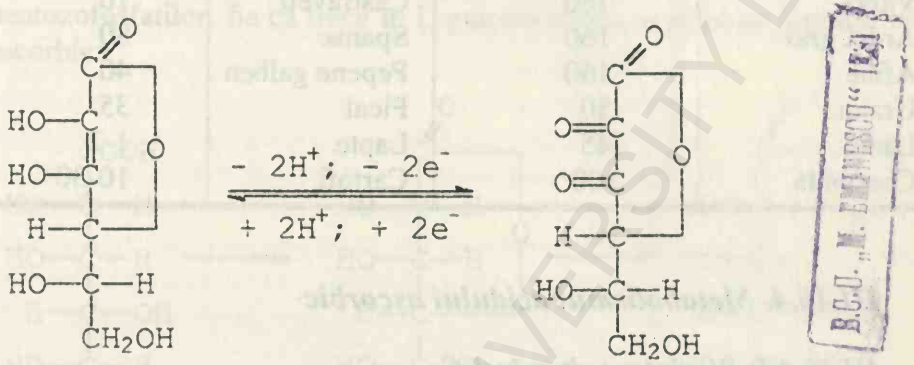
Din punct de vedere structural, vitamina C este 2,3-ceto-L-gulonolactona:



acid L-ascorbic

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Acidul ascorbic pur se prezintă sub forma unor cristale anhidre, incolore, solubile în apă, alcooli și solvenți polari și insolubile în solvenți organici nepolari. Este o substanță optic activă cu p.t.=192°C. Proprietățile chimice ale acidului ascorbic sînt determinate, în primul rînd, de capacitatea sa reducătoare legată de posibilitatea trecerii reversibile din forma dienolică în cea dicetonică. Același caracter reducător puternic stă și la baza principalei funcții biologice a vitaminei C, cea de protecție antioxidantă:



forma dienolica (acid ascorbic) — forma dicetonica (acid dehidroascorbic)

B.C.U. „M. EMINESCU" IAȘI

Caracterul reducător al acidului ascorbic se manifestă și față de $AgNO_3$,$KMnO_4$, cationii Cu^{2+}, anionii I^-, albastru de metilen, 2,6-diclorfenolindofenol etc. Una din metodele de dozare a vitaminei C în diferite surse o constituie titrarea extractelor vitaminice obținute cu 2,6-diclorfenolindofenol. Cu $FeCl_3$ și $FeSO_4$ acidul ascorbic formează complecși colorați, aceste reacții stînd la baza determinărilor calitative ale vitaminei C. În mediu de acid sulfuric concentrat, acidul ascorbic formează cu 2,4-dinitrofenil-hidrazina ozazone colorate în roșu. Si această reacție stă la baza unor metode de dozare a vitaminei C.

III.10.3. Stare naturală

Vitamina C este larg răspîndită în plante și în unele microorganisme unde este sintetizată din precursori glucidici. Majoritatea animalelor pot sintetiza acidul ascorbic, cu excepția omului, primatelor și cobaiului. Pentru om, cele mai bune surse de vitamină C sînt fructele și legumele proaspete. Conținutul în acid ascorbic al unor alimente este redat în Tabelul IV:

Tabelul IV

Conținutul în vitamină C al unor alimente

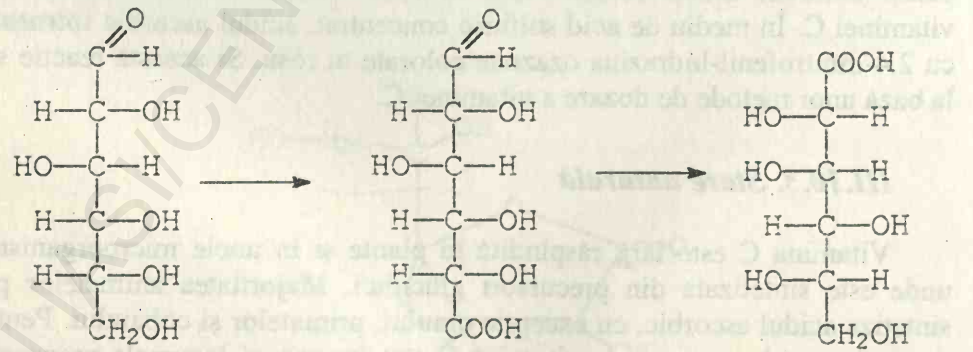
Produsul	mg acid ascorbic/100 g	Produsul	mg acid ascorbic/100 g
Măceș	400	Țelină	10
Varză	180	Castraveți	10
Ardei gras	160	Spanac	80
Afine	160	Pepene galben	40
Urzici	50	Ficat	35
Lămîi	45	Lapte	1-2
Conopidă	100	Cartofi	10-30

III.10.4. Metabolismul acidului ascorbic

III.10.4.1. Biosinteza vitaminei C

Acidul ascorbic poate fi sintetizat de toate plantele verzi, de unele microorganisme și de către animale, cu exceptia cobaiului, primatelor și omului, utilizîndu-se în calitate de precursor fie glucoza, fie galactoza. În organismul animalelor ce pot sintetiza acidul ascorbic, acesta joacă mai mult rol hormonal decît vitaminic. La acestea, cea mai mare cantitate de acid ascorbic se sintetizează în suprarenale, iar în cantități mai mici în ficat și rinichi.

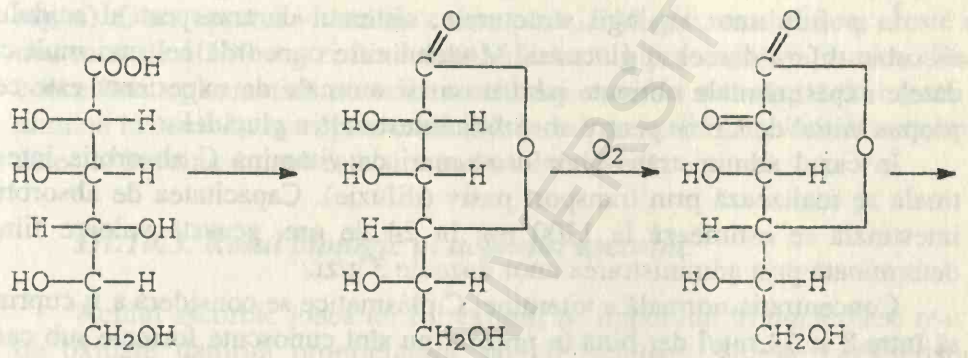
În procesul biosintetic, glucoza se transformă în acid L-gulonic pe calea glucuronatului:



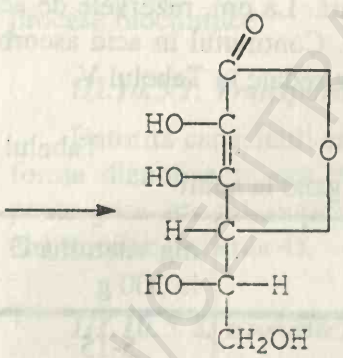
D-glucoza acid D-glucuronic acid L-gulonic

Conversia acidului D-glucuronic în acid L-gulonic este o transformare complexă de reducere a grupării aldehidice în grupare alcoolică primară. La această etapă are loc inversia moleculei în sensul că atomul C_1 al acidului glucuronic (ce corespunde atomului C_1 al glucozei) devine atomul C_6 al acidului gulonic, deci și al acidului ascorbic.

În funcție de necesitățile organismului, acidul gulonic astfel format, fie că se transformă în acid 3-ceto-L-gulonic, L-xiluloză, etc. și intră în ciclul pentozofosfaților, fie că trece în L-gulonolactonă urmînd să formeze acidul ascorbic:



acid L-gulonic L-gulonolactona 2-ceto-L-gulonolactona



acid L-ascorbic

Imposibilitatea organismului uman, al primatelor și cobaiului de a sintetiza vitamina C este datorată absenței a două enzime ce intervin în etapele finale ale procesului biosintetic: D-glucuronolacton-reductaza și L-gulonolacton-oxidaza.

III.10.4.2. Absorbția intestinală a acidului ascorbic

Absorbția la nivel intestinal a vitaminei C se realizează contra gradientului concentrației sale prin intermediul unui sistem de transport specific ce prezintă toate caracteristicile unui transport activ:

- se realizează rapid și este saturabil;
- este Na-dependent și inhibat de uabaină, deci este Na,K-ATP-ază-dependent;
- este specific fiind inhibat de analogi structurali;
- este strict localizat în ileonul proximal.

În pofida unor analogii structurale, sistemul de transport al acidului ascorbic diferă de cel al glucozei. Modelul care concordă cel mai mult cu datele experimentale obținute pentru om și animale de experiență este cel propus inițial de Crane pentru absorbția intestinală a glucidelor.

În cazul administrării unor doze mari de vitamină C absorbția intestinală se realizează prin transport pasiv (difuzie). Capacitatea de absorbție intestinală se estimează la 1200 mg în 24 de ore, această valoare fiind determinată prin administrarea unor doze de 3 g/zi.

Concentrația normală a vitaminei C plasmatice se consideră a fi cuprinsă între 8 și 14 mg/l dar pînă în prezent nu sînt cunoscute formele sub care această vitamină este vehiculată. Acidul ascorbic se întîlnește în majoritatea țesuturilor și organelor dar mai ales în celulele sanguine (leucocite), în glandele endocrine (suprarenale, hipofiză) și în hepatocite. S-a mai demonstrat că vitamina C traversează bariera placentară. La om, rezervele de acid ascorbic se situează între 20 și 50 mg/Kg corp. Conținutul în acid ascorbic al diferitelor țesuturi și organe la omul adult sînt redate în Tabelul V.

Tabelul V

Conținutul în acid ascorbic al diferitelor organe la adult

Organul	mg vitamină C la 100 g	Organul	mg vitamină C la 100 g
Hipofiza	40-50	Rinichi	5-15
Suprarenale	30-40	Inimă	5-15
Ochi	25-31	Plămîni	6- 7
Creier	13-15	Mușchi scheletici	3- 4
Pancreas	10-15	Testicule	2- 3
Ficat	10-16	Tiroidă	2- 3
Splină	10-15	Salivă	0,07-0,09

III.10.4.3. Catabolismul acidului ascorbic

Studiile efectuate cu ajutorul acidului ascorbic marcat au arătat o eliminare pulmonară a CO_2 rezultat prin oxidarea acidului ascorbic, dar la om această cale de eliminare este secundară. Principalii metaboliți ai vitaminei C se elimină din organismul uman pe cale renală. Prin urină se elimină atît acidul ascorbic nemodificat cît și acidul L-dehidroascorbic, acidul 2,3-dioxo-L-gulonic și acidul oxalic, în proporții variabile. La un aport zilnic fiziologic normal de vitamină C (60-100 mg) principalul metabolit ce se regăsește în urina adultului sănătos este acidul oxalic (30-50 mg/zi). Dacă aportul vitaminic crește pînă la 10 g/zi, oxaluria nu crește cu mai mult de 10-30 mg/zi fiind mult inferioară hiperoxaluriei primare. Dacă concentratia plasmatică normală a acidului ascorbic este depășită, acesta se elimină în cantități mari prin urină sub formă nemodificată. Un alt metabolit detectat în urina umană este și ascorbat-2-sulfatul.

III.10.5. Rolul biologic al acidului ascorbic

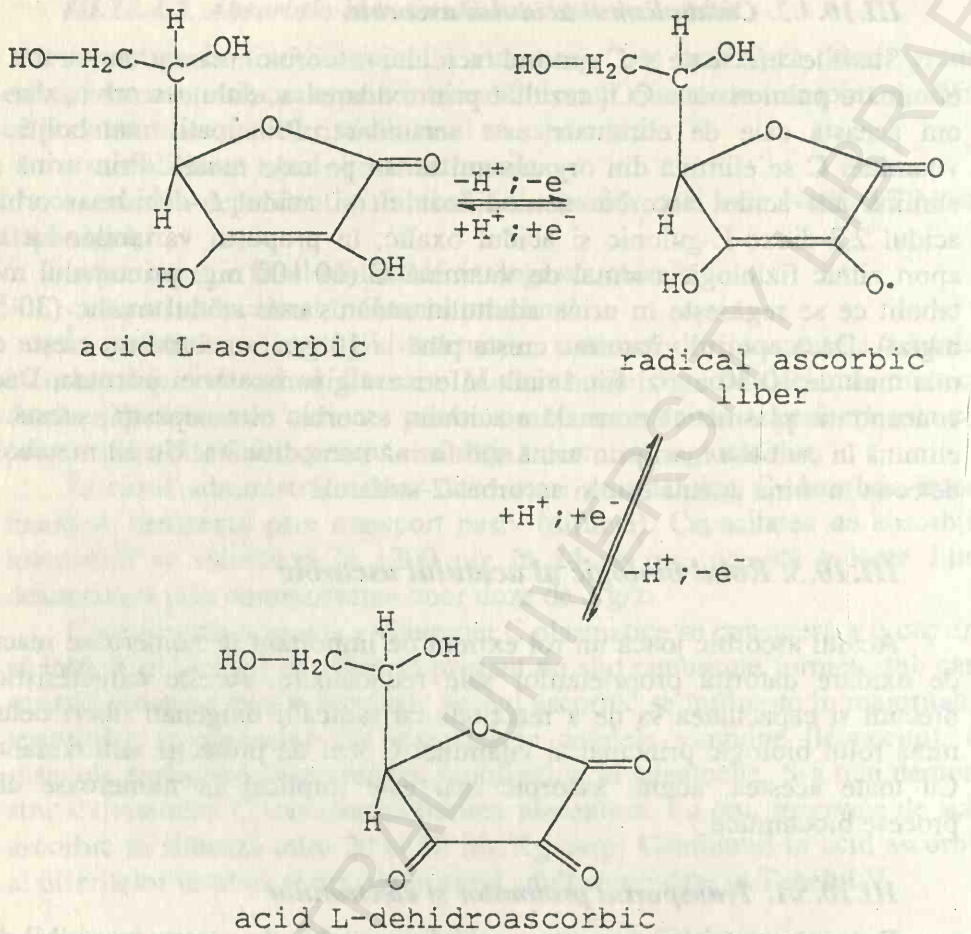
Acidul ascorbic joacă un rol extrem de important în numeroase reactii de oxidare datorită proprietăților sale reducătoare. Aceste caracteristici, precum și capacitatea sa de a reactiona cu radicalii oxigenați liberi determină rolul biologic principal al vitaminei C -cel de protecție antioxidantă. Cu toate acestea, acidul ascorbic mai este implicat în numeroase alte procese biochimice.

III.10.5.1. Transportul protonilor și electronilor

Datorită capacității crescute a acidului ascorbic de a trece reversibil din forma dienolică în cea dicetonică, mulți autori consideră că vitamina C poate juca un rol important în sistemele de transport ale protonilor și electronilor (schema 4).

III.10.5.2. Biosinteza colagenului

Procesul de conversie a procolagenului în colagen necesită hidroxilarea resturilor de prolină și lizină. Acidul ascorbic joacă un rol specific în aceste reacții de hidroxilare ce nu pot fi realizate de alți agenți reducători. Aceste reacții sînt catalizate de lizin-hidroxilază și respectiv prolin-hidroxilază, în prezența oxigenului, fierului bivalent și α-cetoglutaratului. Acidul ascorbic joacă un rol de protecție față de aceste enzime, împiedicînd oxidarea grupelor tiolice din apoenzime.



Schema 4. *Rolul acidului ascorbic în sistemele de transport ale protonilor și electronilor.*

Dacă la acest nivel apare o anomalie a biosintezei colagenului, aceasta este responsabilă de unul din principalele simptome ale scorbutului - tuberculozarea țesutului conjunctiv. Dacă colagenul se formează în absența acidului ascorbic, fibrilele sale sînt mai puțin numeroase și purtătoare de anomalii structurale.

Acidul ascorbic mai este implicat în sinteza diferitelor structuri microsomale și polisomale.

III.10.5.3. Participarea acidului ascorbic la alte reacții de hidroxilare

În etapele inițiale ale metabolismului steroizilor, lipidelor și unor medicamente, acidul ascorbic este implicat în acțiunea unor hidroxilaze specifice. Astfel, hidroxilazele citocrom P_{450}-dependente din microsomi, în

prezența acidului ascorbic, catalizează transformarea colesterolului în acizi biliari, precum și hidroxilarea sau demetilarea substanțelor aromatice și a altor xenobiotice cum ar fi poluanții cancerigeni și pesticidele. Procesul de biosinteză a corticosteroizilor cuprinde și o etapă de hidroxilare la nivel mitocondrial și microsomal. Această transformare este mult încetinită în hipovitaminoza C dar se restabilește rapid prin administrarea de acid ascorbic.

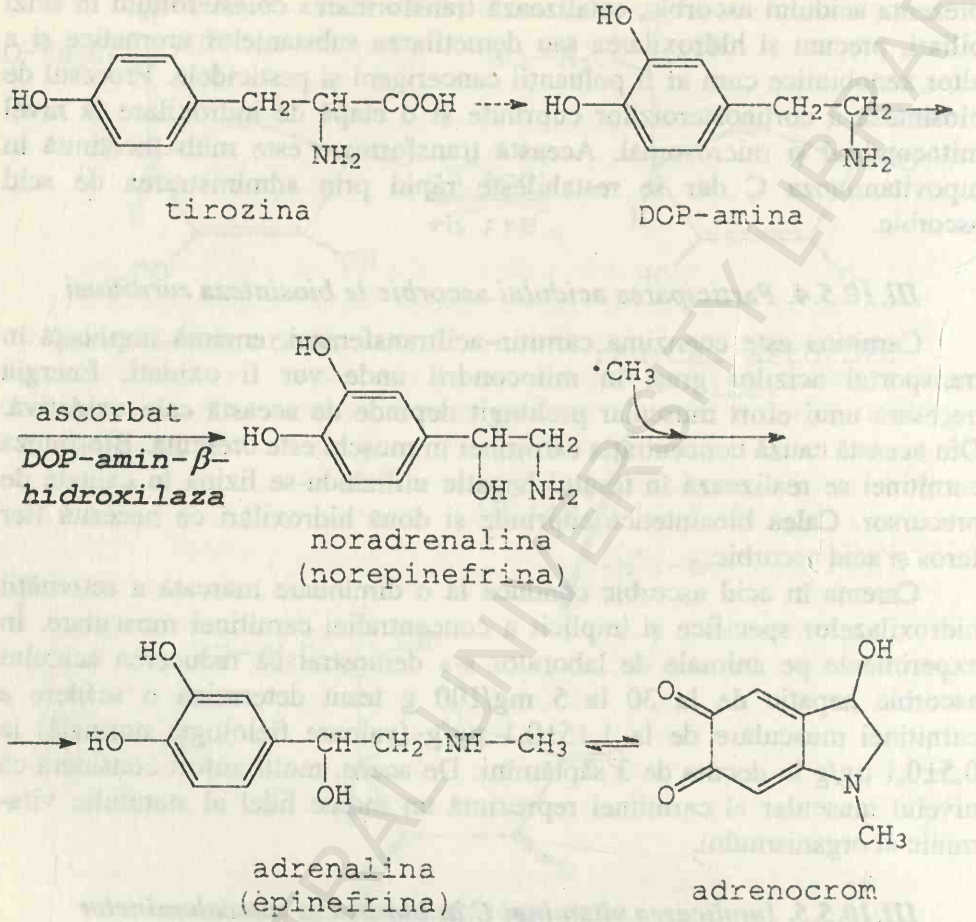
III.10.5.4. Participarea acidului ascorbic la biosinteza carnitinei

Carnitina este coenzima carnitin-aciltransferazei, enzimă implicată în transportul acizilor grași în mitocondrii unde vor fi oxidați. Energia necesară unui efort muscular prelungit depinde de această cale oxidativă. Din această cauză concentrația carnitinei în mușchi este crescută. Biosinteza carnitinei se realizează în țesutul hepatic utilizîndu-se lizina în calitate de precursor. Calea biosintetică cuprinde și două hidroxilări ce necesită fier feros și acid ascorbic.

Carența în acid ascorbic conduce la o diminuare marcată a activității hidroxilazelor specifice și implicit a concentrației carnitinei musculare. În experimente pe animale de laborator s-a demostrat că reducerea acidului ascorbic hepatic de la 30 la 5 mg/100 g țesut determină o scădere a carnitinei musculare de la 1,15±0,1 μg/g (valoare fiziologic normală) la 0,5±0,1 μg/g în decurs de 3 săptămîni. De aceea, mulți autori consideră că nivelul muscular al carnitinei reprezintă un indice fidel al statutului vitaminic al organismului.

III.10.5.5. Implicarea vitaminei C în biosinteza catecolaminelor

Procesul de biosinteză a catecolaminelor reclamă prezența acidului ascorbic ce este indispensabil conversiei DOP-aminei în norepinefrină. Această reacție este catalizată de DOP-amin-hidroxilază (3,4-dihidroxifenil-etilamin-ascorbat:oxigen-oxidoreductaza) care necesită acid L-ascorbic, oxigen molecular și cupru. De aceea, biosinteza catecolaminelor are loc în țesuturi bogate în ascorbat cum ar fi glandele suprarenale sau creierul. De altfel, acidul L-ascorbic contribuie și la conversia dihidrobiopterinei în tetrahidrobiopterină, aceasta din urmă fiind necesară hidroxilării fenilalaninei și tirozinei. Mai este posibilă, de asemenea, o acțiune de protecție a catecolaminelor prin interacțiuni chimice directe și eliminarea adrenocromului, metabolit toxic al adrenalinei:



În același timp, tirozina poate fi degradată pînă la acid homogentizinic care se elimină pe calea renală, ultima etapă a acestei secvențe metabolice fiind catalizată de o oxidază specifică ascorbat-dependentă.

III.10.5.6. Rolul vitaminei C în metabolismul mineral

Datorită proprietăților sale reducătoare, precum și capacității de a forma chelați, acidul ascorbic manifestă o acțiune importantă asupra ionilor metalici la nivelul absorbției lor intestinale, circulației si distribuției lor la nivel tisular.

S-a demonstrat astfel că acidul ascorbic favorizează absorbția fierului la nivel intestinal și influențează repartiția sa în organism. De aceea, un deficit alimentar de ascorbat mobilizează rezervele de fier din splină și din sistemul reticuloendotelial, dar nu și rezervele hepatice. Această relație de reciprocitate se manifestă și invers, în sensul că administrarea unor doze

mari de fier metabolizabil determină o creștere a concentrației sanguine a acidului ascorbic. Pentru organismul uman a fost demonstrată existența unei corelații inverse între rezervele de fier și cele de acid ascorbic în celulele sanguine. Unele hemosideroze sînt asociate cu accelerarea turnoverul ascorbatului și apariția unor simptome clinice ale carenței de vitamină C. În fine, o asociere a acidului ascorbic în tratamentele cu fier metabolizabil determină o accelerare a metabolizării fierului.

III.10.5.7. Rolul vitaminei C în răspunsul endocrin și alergic

S-a observat că acidul ascorbic joacă un rol important în metabolismul histaminei. În timpul perioadei de debut a scorbutului se observă o scădere bruscă a concentrației plasmatice a acidului ascorbic asociată cu o creștere a nivelului histaminei și a eliminării ei renale ca în alergii. Aceste modificări au fost inițial atribuite unor dereglări ale procesului biosintetic. Studii ulterioare au arătat că acidul ascorbic în prezența cuprului, împiedică acumularea de histamină, contribuind la degradarea și eliminarea sa.

Acidul ascorbic mai poate acționa și ca modulator în biosinteza prostaglandinelor, mai exact favorizează biosinteza PGE în detrimentul PGF, acestea din urmă avînd rol în sensibilitatea histaminică. Funcția histaminică mai poate fi controlată prin inhibiția metabolismului nucleotidelor ciclice la nivelul fosfodiesterazelor. Acidul ascorbic din celulele suprarenalelor s-a dovedit a fi un modulator al secreției hormonilor acestei glande de la cobai în situații de stress.

III.10.5.8. Interacțiunea acidului ascorbic cu radicalii liberi

Una din funcțiile biologice extrem de importante ale acidului ascorbic o constituie capacitatea acestuia de a distruge radicalii liberi oxigenați de tipul radicalilor hidroxil, de oxigen sau a radicalilor superoxid.

Reacțiile prin care se elimină radicalii liberi oxigenați sînt foarte importante mai ales la nivel ocular și la nivelul lichidului interstițial pulmonar unde este asigurată o protecție față de alți agenți oxidanți de tipul ozonului.

Diferitele perturbări oxidative, cum ar fi apariția derivaților peroxidici ai lipidelor, a peroxidului de hidrogen, alterarea structurii ADN și mutageneza etc., au fost atribuite inițial vitaminei C și ionilor metalici. Aceste perturbări au dispărut după înlăturare ionilor din mediul în care s-a experimentat *in vitro*. *In vivo* aceste procese distructive sînt inhibate de către unele enzime specifice, de protecție -superoxiddismutaza, catalaza și glutation-reductaza- precum și de către vitamina E. La subiecții în vîrstă, rolul acidului ascorbic poate fi atribuit capacității sale de a controla radicalii liberi prin intermediul radicalului ascorbat.

III.10.5.9. Rolul acidului ascorbic în funcțiile imunologice și antibacteriene

Vitamina C este implicată în funcțiile imunologice și antibacteriene ale leucocitelor prin creștera mobilității lor, stimularea șuntului hexozo-monofosfaților producător de energie celulară și prin protejarea membranei leucocitare față de agenții oxidanți. Acidul ascorbic mai joacă un rol important și în procesul de biosinteză a interferonului.

III.10.6. Necesarul de vitamină C

Deși funcțiile biologice ale acidului ascorbic sînt destul de bine studiate și cunoscute, necesitățile zilnice de vitamină C ale omului nu sînt stabilite cu exactitate, literatura de specialitate raportînd valori relativ diferite. Se consideră totuși că la omul adult, necesarul de acid ascorbic se ridică la 75-80 mg/zi, deci este vorba de un necesar relativ ridicat comparativ cu celelalte vitamine. În timpul sarcinii acesta poate crește pînă la 100 mg/zi, iar în perioada de lactație -pînă la 120 mg/zi.

III.10.7. Tulburări de aport vitaminic

Lipsa acidului ascorbic din alimente sau unele tulburări la nivelul tractului gastrointestinal care diminuează absorbția vitaminei conduc la instalarea stării de avitaminoză C și la boala carențială numită *scorbut*. În realitate, scorbutul poate fi considerat ca fiind o poliavitaminoză deoarece acidul ascorbic nu este singurul factor a cărui insuficiență determină apariția sa.

Apariția scorbutului este precedată de hipovitaminoză ce se manifestă prin astenie, inapetență, scăderea rezistenței organismului la efort și la infecții, dureri la nivelul articulațiilor și al pulpelor (așa-numitul "reumatism scorbutic"), paloarea și uscăciunea tegumentelor, tahicardie și dispnee. Agravarea stării carențiale conduce la apariția de hemoragii punctiforme subcutanate, musculare, gingivale și periostale. Pot să apară,de asemenea, echimoze spontane sau provocate de traumatisme foarte mici.

În avitaminoza avansată survin febra, cangrenele, hemoragii viscerale, necroze osoase etc. Deseori moartea poate fi provocată de unele complicații pulmonare ca pleureziile, pneumoniile, tuberculoza. La copii, scorbutul determină, în primul rînd, încetinirea sau oprirea totală a creșterii.

Simptomatologia clinică a scorbutului este însoțită de o scădere drastică a concentrației plasmatice a acidului ascorbic. Astfel, la apariția primelor simptome clinice ale scorbutului, vitamina C plasmatică are o concentrație cuprinsă între1,3-2,5mg/l comparativ cu 8-14mg/l cît este concentrația normală. Concentrația leucocitară a acidului ascorbic scade mai lent comparativ cu cea plasmatică.

III.10.8. Utilizarea acidului ascorbic în scop terapeutic

a). Cicatrizarea rănilor și plăgilor postoperatorii. Prin intervenția sa în procesul de biosinteză a colagenului, vitamina C contribuie la cicatrizarea plăgilor rezultate în urma unor traumatisme sau intervenții chirurgicale. Observația că rezervele de acid ascorbic leucocitar scad brusc la persoanele operate sugerează un necesar crescut al acestei vitamine la pacienții operați. Numeroase studii au arătat efecienta acidului ascorbic în cicatrizarea rapidă a rănilor.

b). Stimularea sistemului imunitar. Rolul de stimulare a sistemului imunitar de către acidul ascorbic justifică utilizarea acestei vitamine în tratamentul și prevenirea infecțiilor. Vitamina C amplifică mobilitatea leucocitelor, inhibă autooxidarea lor și amplifică concomitent nivelul imunoglobulinelor serice și formarea anticorpilor. Vitamina C mai este, în același timp, un protector al organismului față de șocurile anafilactice.

c). Vitamina C și cancerul. Conform unor date experimentale încă neverificate, s-ar părea că vitamina C ar avea capacitatea de a reduce dezvoltarea unor celule tumorale la om, putînd juca un rol preventiv esențial prin stoparea tramsformării unor substanțe în produși cancerigeni.

d). Utilizarea vitaminei C în boli cardiovasculare. Rolul acidului ascorbic în prevenirea aterosclerozei prin implicarea în metabolismul lipidic rămîne la stadiul de ipoteză datorită dificultăților unor experimente de lungă durată asupra unui număr de subiecți suficient de mare din punct de vedere statistic.

e). Vitamina C în alcoolism. Numeroase studii privind rezervele de acid ascorbic ale organismului la peroane ce consumă excesiv băuturi alcoolice au arătat fără dubiu o carență vitaminică. Diminuarea nivelului plasmatic și leucocitar al vitaminei C a fost observat la acești subiecți, fără însă a se putea afirma dacă hipovitaminoza este datorată malnutriției des întîlnită la alcoolici sau unor modificări în absorbția și metabolismul acidului ascorbic. Este posibilă existența unei concordanțe între gradul de saturare a organismului în vitamină C și metabolismul alcoolului la etilici.

f). Vitamina C în tabagism. Și la fumători s-a constatat un vivel scăzut al acidului ascorbic plasmatic. Numeroase studii explică această scădere prin intensificarea catabolismului acidului ascorbic și nu prin diminuarea absorbției intestinale și a excreției urinare a acestei vitamine.

g). Vitamina C și stress-ul. A fost identificat un necesar suplimentar de acid ascorbic exogen în situații de stress. S-a mai constatat că un aport zilnic de 1 g vitamină C este util în timpul eforturilor intelectuale intense.

III.11. VITAMINA P (BIOFLAVONOIDELE, VITAMINA PERMEABILITĂȚII)

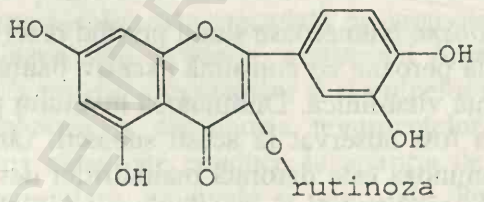
III.11.1. Generalități

În 1936, Szent-Gyorgy constată că în produsele naturale acidul ascorbic este deseori asociat cu o substanța care îi amplifică activitatea antiscorbutică. Prin cercetări ulterioare s-a demonstrat că această substanță are proprietatea de a mări permeabilitatea capilară, motiv pentru care a primit numele de vitamina P sau vitamina permeabilității.

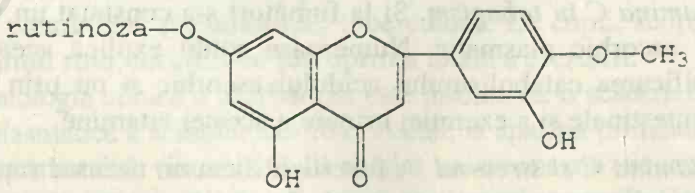
Cercetările efectuate în vederea stabilirii structurii chimice a vitaminei P au arătat că de fapt activitatea vitaminică P este caracteristică unui grup de substanțe cu structură glicozidică.

III.11.2. Structura chimică și proprietățile vitaminei P

Substanțele reunite sub denumirea generică de vitamină P au structură de glicozide flavonice ce conțin în calitate de agliconi unii derivați flavonici (ca în apigenină), flavonolici (quercetina), flavononici (ca în hesperidină și în eriodictiol) etc. Flavonoidele cele mai răspîndite în natură sînt rutinul și hesperidina:



rutin



hesperidina

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Flavonoidele sînt foarte răspîndite în plante, mai ales în flori și fructe. Vitamina P poate fi extrasă și purificată din florile, frunzele și fructele unor plante.

III.11.3. Rolul biologic al vitaminei P

La plante,flavonoidele sînt implicate în pigmentarea florilor și a fructelor (antocianide, flavonoli, flavone și altele), precum și în unele procese redox la nivelul celulei vegetale.

Pentru organismul uman și animal, principala funcție biologică a vitaminei P constă în acțiunea acesteia asupra peretelui vascular constînd într-o creștere a rezistenței capilarelor. În felul acesta este influențată și permeabilitatea capilară precum și presiunea sanguină. În doze mari, flavonoidele manifestă o acțiune diuretică, precum și o acțiune antibacteriană și antivirală.

Vitamina P influențează în mod direct activitatea unor enzime. S-a pus în evidență astfel efectul inhibitor al flavonoidelor asupra activității tirozindecarboxilazei, xantinoxidazei, succinatoxidazei, glucozo-6-fasfatazei etc. S-a mai demonstrat o anumită acțiune a vitaminei P asupra unor glande endocrine cum ar fi tiroida, gonadele, suprarenalele etc. Unele izoflavone au o activitate estrogenă apreciabilă datorită, probabil, unor anumite analogii structurale.

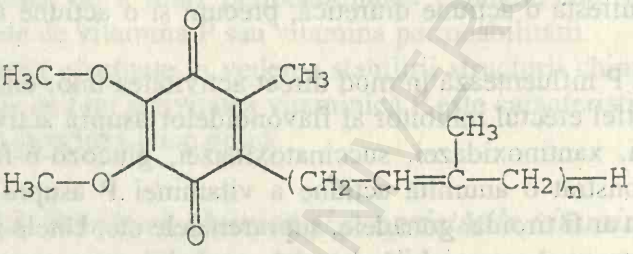
În practica medicală vitamina P se utilizează în tratamentul stărilor patologice însoțite de permeabilitate capilară crescută și scăderea rezistenței capilarelor, pe care le normalizează.

De asemenea, se recomandă și în hemoragii la nivelul unor anumite organe (plămîni, stomac, esofag), în colite ulceroase, în diatezele hemoragice ale nou-născutului, în urticarii cronice, psoriazis etc. Vitamina P a mai fost experimentată și în profilaxia și tratamentul aterosclerozei.

III.12. ALTE SUBSTANȚE CU ACȚIUNE VITAMINICA

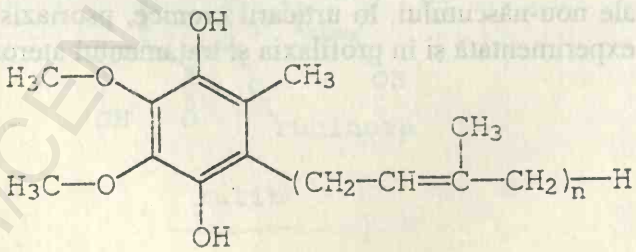
III.12.1. Ubichinona (Coenzima Q)

Deși este considerată o vitamină tipică, ubichinona participă în procesele de oxido-reducere celulară, unde îndeplinește un rol asemănător cu cel al coenzimelor flavinice și piridinice:



coenzima Q
(forma oxidata)

$$-2H^+;-2e^- \rightleftharpoons +2H^+;+2e^-$$



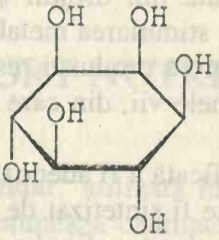
coenzima Q
(forma redusa)

În prezent se cunosc mai multe ubichinone care diferă între ele prin mărimea catenei laterale izoprenoidice. Proprietățile oxido-reducătoare ale ubichinonei fac posibilă participarea ei în catena respiratorie.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

III.12.2. Mezoinozitolul

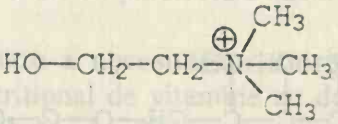
Acest compus a fost izolat prima dată din straturile aleuronice ale semințelor de graminee. Din punct de vedere structural, mezoinozitolul este unul din stereoizomerii ciclohexitolului:



Proprietățile vitaminice ale mezoinozitolului rămîn discutabile deoarece unele animale și omul par capabile să-l sintetizeze. Totodată s-au observat și fenomene de carență ce constau în pierderi în greutate, alopecie, dermatite în jurul ochilor etc.

III.12.3. Colina

Și includerea colinei în clasa vitaminelor este discutabilă deoarece majoritatea organismelor animale o pot sintetiza. În afară de aceasta, colina mai îndeplinește și un rol structural deosebit prin participarea sa în biosinteza unor fosfolipide (fosfatidilcolinele și fosfatidiletanolaminele), în timp ce rolul biocatalitic este mai puțin evident. Din punct de vedere structural, colina este un derivat al etanolului:



În afară de rolul structural, colina mai îndeplinește în organismele vii și funcția de donor de grupări metil și de precursor al acetilcolinei, aceasta din urmă fiind un mediator chimic important al impulsului nervos. Datorită acestor funcții importante pentru organismul animal și uman, este absolut obligatoriu și un aport de colină exogenă. În carența colinei pot să apară unele perturbări la nivelul metabolismului lipidic precum și în funcționarea normală a ficatului, rinichilor, sistemului nervos etc.

III.12.4. Alte vitamine ale complexului B

Cercetări efectuate pe diferite surse biologice (drojdia de bere, boabe de cereale, ficat etc.) au condus la identificarea și izolarea a numeroși alți compuși cu activitate vitaminică.

Vitamina B_4 a fost izolată din drojdii și s-a dovedit a fi necesară creșterii animalelor tinere prin stimularea metabolismului glucidic, lipidic și proteic. S-a demonstrat ulterior că produsul respectiv este adenina ce poate fi sintetizată de toate organismele vii, din care cauză apartenența ei la clasa vitaminelor este discutabilă.

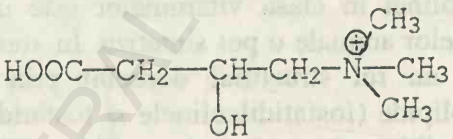
Vitamina B_8 a fost identificată a fi adenozin-5'-monofosfatul ciclic sau neciclic. Și acest compus poate fi sintetizat de majoritatea organismelor vii din care cauză nu poate fi considerat ca fiind o vitamină propriu-zisă.

Vitaminele B_{10} și B_{11} sînt extracte hepatice în care principiile active sînt amestecuri de pteroilglutamat și vitamină B_{12}.

Vitamina B_{13} este de fapt acidul orotic (acid uracil-6-carboxilic). Suplimentarea rației alimentare cu acid orotic influențează pozitiv creșterea organismelor tinere și metabolismul general.

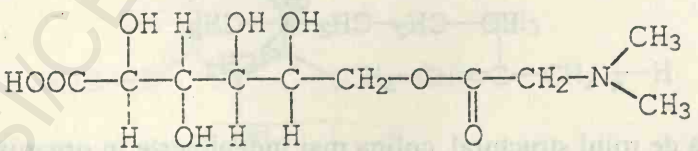
Vitamina B_{14} este un produs identificat în urină cu proprietăți stimulatoare căruia nu i s-a determinat încă structura chimică.

Vitamina B_r. Această denumire a fost atribuită carnitinei:



Pentru unele insecte îndeplinește rol de factor de creștere.

Vitamina B_{15} sau acidul pangamic adică acidul O-(N,N-dimetil-glicil)-6-D-gluconic:



Unii derivați ai acidului pangamic sînt utilizați în terapeutică dar apartenența la clasa vitaminelor rămîne discutabilă.

Relativ recent a fost izolată și studiată ***vitamina U*** care este S-metil-metionin-sulfonatul utilizat în medicină în profilaxia și tratamentul gastritelor, colitelor, ulcerului, în cicatrizarea plăgilor postoperatorii. Preparatul mai manifestă o oarecare acțiune de prevenire a sclerozei.

IV. VITAMINELE ȘI NUTRIȚIA

IV.1. APORT NUTRIȚIONAL

Expresia "aport recomandat" utilizată în capitolele anterioare pentru fiecare vitamină în parte desemnează cantitatea de vitamină care, ingerată zilnic prin alimente sau sub formă de preparate farmaceutice garantează acoperirea necesităților zilnice la subiecți normali, sănătoși în așa fel încît să se evite orice risc de supradozare. Aportul recomandat nu include, sub nici o formă, necesarul vitaminic în condiții dietetice și terapeutice speciale întîlnite în boli ereditare de metabolism sau în alte situații patologice și *nu trebuie confundat* cu necesitățile unui anumit individ în particular.

Primele doze zilnice recomandate (RDA-Recommended Dietary Allowance) au fost publicate în 1943 de către Ministerul Alimentației și Nitriției din SUA. Aceste date au fost în permanență adaptate în funcție de noile condiții de trai și de descoperirea de noi vitamine, ultima reeditare datînd din 1980. FAO și OMS au definit, de asemenea, necesitățile zilnice în vitamine ale organismului uman, ținîndu-se cont de populația întregului glob. Dată fiind marea diversitate de obiceiuri culinare la diferite popoare precum și marele decalaj al nivelului de trai între diferite țări, datele publicate de FAO și OMS sînt destinate statelor membre ca valori orientative, urmînd ca ministerele de profil să le adapteze la condițiile concrete din propriile țări.

Termenul de "evaluare a necesităților nutriționale" face referire la compararea aportului nutrițional de vitamine cu doza zilnică recomandată. Cele două noțiuni coincid din punct de vedere cantitativ la indivizii sănătoși, cu o alimentație variată, echilibrată și suficientă cantitativ. Pentru evaluarea celor doi parametri, se ține cont în mod obligatoriu de următoarele fenomene:

- ponderea constituenților alimentari de bază (grîu,lapte, ulei vegetal etc.) și luarea în considerare a modificărilor calitative ce au loc în procesul prelucrării industriale și rafinării;
- pierderile de vitamine în timpul stocării alimentelor, în timpul procesului culinar și, eventual, menținerea la cald a acestora un timp relativ îndelungat în condițiile restaurantelor, cantinelor și altor unități de ali-

mentație publică;

- reglarea aportului caloric;
- limitarea aportului caloric la grupele de risc (cure de slăbire etc.);
- timpul și modul de alimentare: alimentație publică sau familială, regimuri vegetariene, regimuri momentane, posturi etc.

Pentru evaluarea cu precizie a necesităților vitaminice ale unui anumit subiect este absolut necesară cunoașterea pentru fiecare aliment a cantității reale consumate și a conținutului real al fiecărei vitamine în momemntul ingerării. Deseori se fac în paralel și determinări biochimice (concentrația vitaminelor în sînge și urină).

IV.2. HIPOVITAMINOZELE LA GRUPELE DE RISC

Unele hipo- și avitaminoze (scorbutul, beri-beri, pelagra etc) sînt extrem de rare în zilele noastre cu excepția unor țări subdezvoltate unde populația este, în general, subnutrită. Se pare că există însă o așa numită **"carență minimală"** confirmată prin cercetări în domeniul nutriției și alimentar în diferite state industrializate (Franța, SUA, Canada, Germania, Marea Britanie, Elveția, Belgia, Olanda). În aceste situații se au în vedere anumite grupuri de populație la care se observă anumite carențe de moment sau de mai lungă durată în funcție de starea fizio-patologică, modul de viață, obiceiuri culinare etc. Din acest punct de vedere, principalele grupuri de risc sînt:

- nou-născuții prematur;
- femeile în timpul sarcinii și alăptării;
- femeile ce utilizează mijloace anticonceptionale orale care provoacă unele hipovitaminoze, în special a vitaminei B_6;
- copiii cu pielea puternic pigmentată (negrii, arabii, romii etc.) chiar dacă nivelul de trai este apropiat de cel occidental;
- adolescenții; în perioada pubertății, necesitățile zilnice în vitamine sînt total diferite decît la alte vîrste;
- persoanele obeze care urmează un regim hipocaloric de slăbire;
- alcoolicii, în special marii consumatori de băuturi tari;
- fumătorii pentru care studii recente au pus în evidență un necesar crescut de vitamină C;
- persoanele în vîrstă care au, în general, tulburări de absorbție intestinală a vitaminelor;
- persoanele operate la care intervenția chirurgicală s-a făcut la oricare segment al tubului digestiv, inclusiv pancreasul, vezica biliară, ficatul etc;
- persoanele aflate sub tratament cu antibiotice sau care consumă în mod regulat unele medicamente ce scad capacitatea de absorbție intestinală;

- persoanele care se droghează.

APORT NUTRIȚIONAL DE VITAMINE

Aportul de diferite vitamine, ingerate simultan cu alimentele este diferit în funcție de vîrstă, stare fiziopatologică, uneori sex etc. FAO și OMS au elaborat scheme orientative în funcție de aceste criterii (vezi tabelele VI-XI) avînd în vedere și unele cazuri speciale cum ar fi prematurii, bolnavii perfuzați timp relativ îndelungat etc. La prematuri de exemplu, unde creșterea este mai rapidă decît la nou-născuții la termen (1,1-1,5 cm/săptămînă), necesitățile sînt mai mari la toate vitaminele.

Tabelul VI

Necesitățile zilnice în diferite vitamine la prematuri*

Vitamina	U.M.	Aport zilnic necesar
A	U.I.	500-800
D	U.I.	400-600
E	mg	25-30
K	µg	15-25
C	mg	50-60
B_1	mg	0,2
B_2	mg	0,3-0,4
B_6	mg	0,2-0,4
Niacină	mg	4-5
Acid pantotenic	mg	1-2
B_{12}	µg	1,5-2
Acid folic	µg	20-60
Biotină	µg	10-12

* Watier B. et al.,1987

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITARĂ

Vitaminoterapia în patologia prematurului* Tabelul VII

Starea fizio-patologică	Scopul vitaminoterapiei	Vitamina administrată
Supraoxigenare	*Prevenirea displeziei bronho-pulmonare și a fibropleziei retrolentale*	E
Hipocalcemie, osteopenie, rahitism	*Creșterea absorbției calciului și mineralizarea oaselor*	D_3 D_2
Hipertirozinemie Hiperfenilalaninemie	*Regim bogat în proteine*	C B_6
Fototerapia icterului	*Prevenirea oxidării membranare la nivel eritrocitar*	E B_2
Amenia prematurului	*Evitarea hemolizei oxidative*	E Acid folic

*Watier B. et al.,1987

Tabelul VIII

Aportul zilnic de vitamine recomandat nou-născuților (0-6 luni)*

Vitamina	Lapte matern (6x120 ml)	Lapte praf (norme occidentale) (6x120 ml)	Necesar recomandat
A (U.I.)	820-1240	820-2480	1400
D (U.I.)	3-36	-	400
E (mg)	4,7-5	4,7-14	3
K (μg)	1,5-11	-	12
C (mg)	21-28	21-84	35
B_1(mg)	0,094-0,140	0,094-0,430	0,3
B_2(mg)	0,19-0,28	0,19-0,84	0,4
B_6(mg)	0,094-0,140	0,094-0,430	0,3
PP(mg)	0,95-1,15	0,95-3,46	6
Ac.pantotenic (mg)	0,94-1,44	0,94-4,30	2
B_{12}(μg)	0,19-0,28	0,19-0,84	0,5
Ac. folic (μg)	24-33	24-99	30
Biotină (μg)	2,9-7,2	-	35

*Watier B. et al.,1987

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tabelul IX

Aportul zilnic de vitamine recomandat copiilor mici (6-12 luni)*

Vitamina	Europa	SUA	Norme OMS
A (U.I.)	1330	1330	1000
D (U.I.)	400-600	400	400
E (mg)	3-4	4	-
K (μg)	-	10-20	-
C (mg)	35	35	20
B_1(mg)	0,4	0,5	0,3
B_2(mg)	0,6	0,6	0,5
B_6(mg)	0,6	0,6	0,5
PP(mg)	6,0	8,0	5,4
Ac.pantotenic (mg)	3,0	3,0	-
B_{12}(μg)	1,0	1,5	0,3
Ac. folic (μg)	50	45	60
Biotină (μg)	50-90	50	60

*Watier B. et al.,1987

Tabelul X

Aportul zilnic de vitamine recomandat copiilor (1-12 ani)*

Vitamina	1-3 ani	4-9 ani	10-12 ani
A (U.I.)	1330	2000	2670
D (U.I.)	400-600	400	400
E (mg)	5-7	15-20	12-16
K (μg)	15-30	20-60	50-100
C (mg)	35	40-60	40-60
B_1(mg)	0,7	0,8	1,2
B_2(mg)	0,8	1,0	1,4
B_6(mg)	0,8	1,4	1,6
PP(mg)	9,0	12	14
Ac.pantotenic (mg)	3,0	4-7	7-10
B_{12}(μg)	1,0	2,0	2,0
Ac. folic (μg)	100	300	300
Biotină (μg)	50-90	50-90	50-90

*Watier B. et al.,1987

BCU "IOAN CREANGĂ" UNIVERSITY LIBRARY

Tabelul XI

Aportul zilnic de vitamine recomandat adolescenților și adulților*

Vitamina	13-19 ani		Adulți	
	băieți	fete	bărbați	femei
A (U.I.)	3330	2670	3330	2670
D (U.I.)	400	400	400	400
E (mg)	14-18	12-15	14-18	12-15
K (μg)	50-100	50-100	70-140	70-140
C (mg)	60-100	60-100	60-100	60-100
B1(mg)	1,3-1,5	1,3-1,5	1,3-1,5	1,3-1,5
B2(mg)	1,8	1,5	1,8	1,2-1,5
B6(mg)	2,0-2,2	2,0-2,2	2,2-2,4	2,0
PP(mg)	15-18	15-18	18	15
Ac.pantotenic(mg)	7-10	7-10	7-10	7-10
B12(μg)	3,0	3,0	3,0	3,0
Ac.folic(μg)	400	400	400	400
Biotină (μg)	100-300	100-300	100-300	100-300

*Wartier B. et al.,1987

Datele din literatura de specialitate sînt încă insuficiente în ceea ce privește aportul zilnic necesar de vitamine pentru vîrsta a III-a. Se admite că în cazul în care acestia nu prezinta afecțiuni patologice deosebite, necesarul zilnic este identic sau ușor crescut față de cel recomandat adulților. În perioada de sarcină însă, viitoarele mame au nevoie de un aport vitaminic mult mai mare ce poate fi aproximativ dublu la unele vitamine (A, D, PP) sau de aproape 1,5 ori mai mare (toate celelalte vitamine).

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

V. VITAMINOTERAPIA

V.1. VITAMINELE ȘI INTERACȚIUNILE MEDICAMENTOASE

Numeroase preparate farmaceutice manifestă unele efecte secundare printre care se numără și inducerea de carențe vitaminice, probabilitatea apariției hipo- și avitaminozelor depinzînd de durata tratamentului și de modul de interacțiune a medicamentelor cu vitaminele. În literatură există încercări de clasificare a modalităților prin care au loc aceste interacțiuni:

- unele preparate medicamentoase sînt analogi structurali ai unor vitamine și se comportă ca inhibitori competitivi în metabolismul lor normal; efectul lor poate fi imediat;
- alte preparate leagă direct unele vitamine sau derivații activi ai acestora formînd complecși stabili dar inactivi biologic; în acest mod acționează marea majoritate a antivitaminelor;
- o altă categorie de medicamente pot manifesta o acțiune nespecifică cînd are loc, de exemplu, activarea unor enzime microsomale din hepatocite. Din această cauză este accelerat catabolismul vitaminelor sau a precursorilor lor.

V.1.1. TRATAMENTUL ANTITUBERCULOS

a). Piridoxina și acidul nicotinic

Imediat după debutul tratamentului cu hidrazida izonicotinică (HIN) apar dereglări neurologice, în principal neuropatii periferice, datorită acțiunii antivitaminice a HIN. Neurotoxicitatea HIN se manifestă foarte repede deoarece viteza de acetilare a acestui medicament este foarte mică. În toate cazurile, apariția simptomelor hipovitaminozei poate fi prevenită prin administrarea concomitentă a vitaminei B_6 fără ca tratamentul antituberculos să fie afectat. Apariția simptomelor de hipovitaminoză este datorată capacității hidrazidei izonicotinice de a reacționa cu piridoxalfosfatul cu formarea unui complex inactiv, precum și datorită faptului că HIN inhibă activitatea enzimelor piridoxalfosfat-dependente. După tratamente de lungă

durată pot să apară și simptome caracteristice carenței în acid nicotinic datorate inhibiției biosintezei sale, mai exact, datorită inhibiției activității kinureninazei.

O suplimentare a aportului zilnic de piridoxină cu 100-200 mg este suficientă pentru prevenirea carenței vitaminice B_6. Mulți specialiști recomandă asocierea vitaminei B_6 cu niacina deoarece unele simptome carențiale ale acidului nicotinic pot fi potențate de piridoxină.

Literatura de specialitate mai raportează cazuri de afecțiuni neurologice ce apar în urma tratamentului cu cicloserină. Aceasta formează cu vitamina B_6 un complex inactiv biologic. Prevenirea hipovitaminozei se face prin vitaminoterapie ca în cazul tratamentului cu HIN.

b). Vitamina D

Metabolismul vitaminelor D este, de asemenea, perturbat în timpul tratamentului antituberculos. Astfel rifampicina determină o scădere de peste 50 % a concentrației de $25(OH)D_3$. Acest lucru se explică prin activarea enzimelor hepatice de către acest antibiotic. Această acțiune nu este deloc neglijabilă cu atît mai mult cu cît deseori rifampicina este asociată cu hidrazida izonicotinică în tratamentul antituberculos. De aceea, în tratamentul complex se observă scăderea calcemiei, a concentrației de $1,25(OH)_2D_3$ și mai tîrziu a derivatului monohidroxilat $25(OH)D_3$ în timp ce concentrația parathormonului crește după două săptămîni de tratament, mecanismele care stau la baza acestui fenomen fiind încă neelucidate.

V.1.2. TRATAMENTUL ANTICONVULSIVANT

a). Acidul folic

În urma tratamentelor anticonvulsivante prelungite, în special cu difenilhidantoină, apar dereglări neurologice, anemii macrocitare și uneori megaloblastice etc. ce coincid cu scăderea folatului seric și globular. Se pare că starea de hipovitaminoză s-ar datora malabsorbției induse a acidului folic, unii autori indicînd un efect metabolic direct. Carența este prevenită prin administrarea unei doze suplimentare de acid folic de 0,1-1,0 mg/zi.

b). Vitamina D

În cursul tratamentelor anticonvulsivante s-au mai observat hipocalcemii, rahitism sau osteomalacie și alte simptome ale avitaminozei D. În acest caz, efectul medicamentelor anticonvulsivante pare a fi datorat unei activări a enzimelor microsomale din hepatocite, în special a oxidazelor responsabile de degradarea accelerată a $25(OH)D_3$ cu formarea unor derivați polari inactivi. Incidența cea mai ridicată a acestor simptome s-a observat în

urma administrării prelungite de difenilhidantoină și derivați ai acesteia, piramidon și fenobarbital.

c). Utilizarea antagoniștilor acidului folic în tratamentul cancerului, malariei și ca agenți antibacterieni

Cei mai cunoscuți agenți anticancerigeni sînt metotrexatul și aminopterina, ambii fiind analogi structurali ai acidului folic utilizați în chimioterapia anticanceroasă. Se pare că acțiunea lor principală constă în inhibiția competitivă a dihidrofolat-reductazei. Această enzimă posedă o afinitate foarte înaltă față de metotrexat.

Unii agenți folosiți în tratamentul malariei (diamino-pirimidinele) inhibă, de asemenea, dihidrofolat-reductaza. Selectivitatea tratamentului se bazează pe diferența de afinitate dintre enzima parazitului și a celulei umane față de acești produși. Inhibarea activității dihidrofolat-reductazei parazitare poate fi realizată cu doze ale medicamentului de 1000 de ori mai mici față de cele necesare obținerii aceluiași efect la celula umană. Cu toate acestea, selectivitatea este relativă din care cauză s-au înregistrat și accidente grave în asemenea tratamente.

Unii derivați ai agenților antimalarici au acțiune antibacteriană. De exemplu asocierea trimethoprim-sulfametazol inhibă biosinteza bacteriană de acid folic (trimethoprim este o diaminopirimidină ce inhibă puternic dihidrofolat-reductazele bacteriene). Utilizarea acestui medicament, ca și a altor diaminopirimidine, asociată cu malnutriția grăbește apariția simptomelor carențiale de acid folic. Aceleași efecte se observă și la administrarea salazopirinei (salicilazo-sulfapiridină).

d). Tratamentul antiparkinsonian

Eficacitatea tratamentului bolii Parkinson cu DOPA poate fi diminuată prin suplimentare cu piridoxină. Această scădere a eficacității se explică prin formarea unui complex între L-DOPA și piridoxină lipsit de activitate biologică. Este posibilă și o activare a decarboxilării la nivel periferic a dihidrofenilalaninei de către enzimele piridoxalfosfat-dependente, În asemenea situații, efectul inhibitor al piridoxinei este prevenit prin utilizarea concomitentă a carbidopa și benserazidei.

e). Anticoncepționalele estroprogestative

Utilizarea de contraceptive orale afectează incontestabil metabolismul vitaminelor, fapt demonstrat de modificări ale concentrației plasmatice a acestora sau de creșterea eliminărilor pe cale renală. Interpretarea acestor modificări este complicată și de fluctuațiile ce au loc pe parcursul ciclului menstrual. Datele statistice acumulate pînă în prezent nu permit diferențierea ușoară a adaptării biochimice induse de anticoncepționale de alte eventuale dereglări metabolice capabile să modifice cerințele organismului

în vitamine.

Eliminarea pe cale renală a acidului kinurenic și xanturenic după o "încărcare" a organismului cu triptofan, crește considerabil la femeile ce utilizează contraceptive orale. În afară de hipovitaminoza B_6, această modificare reflectă o activare a biosintezei acidului nicotinic. Aceasta înseamnă că anticonceptionalele determină și o reducere a necesarului de niacină.

Utilizarea contraceptivelor orale influențează și metabolismul altor vitamine. Se observă astfel o modificare a distribuției retinolului în organism și o scădere a concentrației leucocitare și plachetare a vitaminei C, în timp ce necesitățile zilnice de tiamină și riboflavină par să nu se modifice.

f) Alte aspecte farmacologice

D-penicilamina, folosită în tratamentul bolii Wilson și a poliartritelor reumatoide formează cu vitamina B_6 un complex inactiv. Dat fiind faptul că acest efect este limitat în timp, el nu necesită o suplimentare a aportului vitaminic. Recent au fost descrise sindroame hemoragice cauzate de hipovitaminoza K la pacienți tratați cu cefalosporine, care cedează la administrarea vitaminei K injectabile. În fine, neomicina administrată *per os* determină malabsorbția intestinală a multor vitamine, în special B_{12}.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

VI. VITAMINELE ȘI CANCERUL

Necesitatea prevenirii bolilor mai frecvente și mai grave reclamă o analiză completă a factorilor de mediu capabili să provoace sau să faciliteze evoluția acestora. Printre aceștia au fost identificați numeroși factori cancerigeni care pot fi clasificați în factori fizici (radiații ionizante), chimici (derivați ai benzenului, gudroanele), virali (toxine ale speciei *Aspergillus flavus*). În afară de aceste tipuri de cancerogeneză, s-au constatat diferențe mari în ceea ce privește incidența diferitelor tipuri de cancer între diferite regiuni ale planetei. Acest lucru a determinat demararea cercetărilor aupra factorilor ce pot explica aceste diferențe. Printre aceștia, alimentația depinde direct de condițiile socio-economice și de modul de viață ce pot fi implicați, eventual, în apariția cancerului. S-a observat astfel că un consum sporit de fibre vegetale diminuează considerabil incidența cancerului de colon. Pe de altă parte, regimurile alimentare bogate în grăsimi și colesterol pot avea o anumită legătură cu diferite tipuri de cancer digestiv sau chiar de sîn.

Rezultatele epidemiologice obținute sînt interpretate cu dificultate deoarece produsele consumate nu sînt pure, adică alimentele vegetale nu conțin numai fibre, iar grăsimile animale foarte rar sînt consumate fără a fi asociate cu alte alimente.

În masa totală a substanțelor nutritive din alimente, vitaminele reprezintă o proporție infimă dar importanța lor biologică este uriașă. Numeroase studii și observații clinice au arătat existența unor corelații între cantitatea de vitamine ingerate și incidența cancerului. Astfel, s-a observat că incidența cancerului de vezică, a tractului digestiv sau de sîn este invers proporțională cu consumul de vitamină A. Rezultate neconcludente au fost obținute în studiile privind relația dintre consumul de vitamină C și incidența cancerului. Aceste studii confirmă încă odată prudența de care trebuie să dăm dovadă în elaborarea oricărei relații cauză-efect. Studiile în acest domeniu sînt numeroase și chiar dacă rezultatele sînt contradictorii se poate afirma cu certitudine că un aport normal în vitamine reduce considerabil incidența cancerului. Cele mai concludente rezultate au fost obținute în utilizarea vitaminei A în tratamentul leziunilor precanceroase și canceroase. S-a demonstrat astfel că etretinatul reduce semnificativ incidența metapleziei bronhice a fumătorilor, iar acidul 13-cis-retinoic este

eficient în tratamentul unor micoze fungoide. Unele epitelioame și chiar metastaze cutanate ale melanomului au răspuns favorabil la acest tratament. S-a observat că și vitaminele D sînt active în tratamentul unor hemopatii.

Problema utilizării vitaminei C în tratamentul adenocarcinoamelor digestive se pare că începe să se clarifice. În ultimul timp, cercetări efectuate în mai multe clinici din lume, au arătat că doze mari de acid ascorbic au efect asupra evoluției unor tipuri de cancer.

În concluzie se poate afirma că unele vitamine, în primul rînd vitamina A, pot avea un efect extrem de favorabil în prevenirea cancerului și au un efect pozitiv cert în tratarea leziunilor precanceroase.

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITAR

BIBLIOGRAFIE

1. Ababei, L., Trandafirescu, M. -*Biochimie, partea I- Vitamine hidrosolubile cu rol enzimatic*, Centrul de Multiplicare al U.M.F. Iași, 1974
2. Artenie, Vl. - *Biochimie*, Editura Universitătii "Al.I.Cuza" Iași, 1991
3. Azuma, N.,Kaminogawa, S., Kobayashi, H., Yamauchi, K.- *Identification of a Calcium-Binding Protein in Human Milk as a-Lactalbumin*, in J.Daiary Sci.,vol.65,p,1401-1407, 1982
4. Bedeleanu, D.,D., Manta, I. - *Biochimie Medicală și Farmaceutică, vol.I. Biochimie structurală*, Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1985
5. Bernstein, P.S. și alții - *Photoaffinity labeling of retinoic acid-binding proteins*, in Proc.Natl.Acad.Sci., USA, vol.92, p.654-658, 1995
6. Boeynaems, J.,M. și alții - *Un role physiologique des plasmalogenes : la protection contre le stress oxydatif et l□exces d□iode*, in Medecine Sciences, vol. II, p. 254-259, 1995
7. Brody, T. - *Nutritional Biochemistry*, Acad. Press, Inc., San Diego, California, 1994
8. Cojocaru, D.C., Marin, E., Artenie, Vl., Comănescu, St. - *Implicarea adenozintrifosfatazei și fosfomonoesterazelor în metabolismul energetic al unei tulpini producătoare de riboflavină*, in Microbiologie industrială și Biotehnologie, Iași, vol.V,p.231-234, 1986
9. Dan, V., Bahrim, G., Nicolau, A. - *Influenta condițiilor de cultivare asupra biosintezei pigmenților carotenoidici de către mucegaiuri selectionate*, in Microbiologie Industrială și Biotehnologie, vol.VII, Iași, p.365-368, 1992
10. Decimo, D., Mark, M. - *Retinoides et bases moleculaires des malformations cardiaques congeniatales*, in Medicine Sciences, vol.11, p.132-133, 1995
11. Dumitru, I.F. - *Biochimie*, Editura Did. și Ped., București, 1980
12. Dumitru, I.F. - *Vitamine. Chimie, biochimie și fiziologie*, Centrul de Multiplicare al Universității București, 1970
13. Duriez, P., Fruchart, L.C. - *Vitamine E et atherosclerose*, Med. et Nut., tom XXIX, p.17-19, 1993
14. Enescu, L. - *Farmacologie veterinară*, Ed.Did. și Ped., București, 1970
15. Enescu, L. - *Biochimie medicală*, vol.I și II, Litografia U.M.F. Iași, 1978
16. Enescu, L., Bazgan, L. - *Biocatalizatori*, Litografia U.M.F. Iași, 1978
17. Enescu, L., Oită, N.N. - *Bazele vitaminoterapiei*, vol I, Editura Junimea, Iași, 1990
18. Fleisher, A. și altii - *Enzyme manipulation by specific megavitamin therapy*, Birth Defects, vol.16, p.239-267, 1980

19. Fournier, A. și alții - *Vitamine D: son metabolisme et ses proprietes biologiques*, in Ann.Med.Interne, vol.136, no.2, p.154-163, Masson, Paris, 1985
20. Gascon-Barre, M. - *La vitamine D. Influence des medicaments anticonvulsivants sur son metabolisme*, in L□Union Medicale du Canada, tom 106, p.636-643, 1977
21. Hambraeus, L. - *Human milk composition*, in Rewiews in Clinical Nutrition, vol.54, no. 4, p.220-236, John Wiley & Sons Ltd. and Commonwealth Agriculture Bureaux, 1984
22. IKan, R. - *Natural Products*, Second Edition, Acad.Press Inc., San Diego, California, 1991
23. Kaneko, J.J. - *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 4-th Edition, Acad.Press Inc., San Diego, California, 1989
24. Kolotilova, A.I., Glushankov, E.P. - *Vitaminy. Khimija, biokhimija i fiziologiceskaja rol*, Ed. Leningrad.Univ., 1976
25. Lehninger, A.L. - *Biochemistry. The Molecular Basis of Cell Structure and Function*, Worth Publisher Inc., New York, 1972
26. Marin, E., Cojocaru, D.C., Topală N.D. - *Dinamica sintezei riboflavinei la Torulopsis candida M-1 cultivat pe diferite medii de cultură*, in Microbiologie Industrială și Biotehnologie, vol.V, p.231-234, Iași, 1986
27. Marin, E., Olteanu,Z., Comănescu,Șt.,Cojocaru,D.C. - *Effect of some Oligoelements Concentration on the Biosynthesis of Riboflavin at Torulopsis candida M-1*, An.șt.Univ."Al.I.Cuza" Iași, s.II-a Biologie., tom 40, p.129-132. 1994
28. Marin, E., Ailiesei, O., Olteanu, Z., Comănescu, Șt., Cojocaru, D.C. - *Correlation between the growth and the synthesis of riboflavine with Torulopsis candida M-1*, in Proceeding of the 8-th National Symposium Microbiology and Biotechnology, Bucharest, p.334-337, 1994
29. Metzler, D.E. - *Biochemistry. The chemical reaction of living cells*, Acad.Press Inc., 1977
30. Mungiu, O.C. - *Farmacologie biochimică*, Litografia U.M.F. Iași, 1974
31. Munnich, A., Ogier, H., Saudubray, J.L. - *Les vitamines. Aspects metaboliques, genetiques, nutritionneles et therapeutiques*, Masson, Paris, 1987
32. Neamțu, G. - *Biochimie vegetală*, Ed.Ceres, București, 1981
33. Olteanu, Z., Marin, E., Cojocaru,D.C., Comănescu, Șt. -*La dinamique del' activite de la dehydrogenase et de la catalase pour la souche Torulopsis candida M-1*, An.șt.Univ."Al.I.Cuza" Iași, s.II-a, Biologie, tom 40, p.101-104, 1994

34. Racadot, A. și alții - *Dosage de la 1,25-dihydroxy-vitamine D plasmatique par couplage CLHP-RIA*, in Immunoanal.Biol., Spec., vol.2, Elsevier, Paris, p.113-118, 1993
35. Raynaud, J.C. - *Acide retinoique et vieillissement cutane*, in Medicine Sciences, vol.11, p.140-141, 1995
36. Roy. O. - *Hypocalcemies chroniques et hypercalcemies. Strategie diagnostique*, in Optionbio, no.1, p.5-8, 1995
37. Rosetti-Colțoiu, M., Oțeleanu, D. - *Biocatalizatorii în practica medicală și farmaceutică*, Ed. Medicală, București, 1980
38. Sennett, C., Rosenberg, L.E. - *Transmembrane transport of cobalamin in prokaryotic and eukaryotic cells*, in Ann.Rev.Biochem., vol.50, p.1053-1086, 1981
39. Tamaș, V., Neamțu, G. - *Pigmenții carotenoidici și metaboliți*, vol.I, Ed. Ceres, Bucuresti, 1986
40. Terroine, T. - *Les interrelations vitaminiques*, Ed.du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 1986
41. Utter, M.F., Sheu, K.F.R. - *Biochemical mechamism of biotin and thiamin action and relationships to genetic disease*, Birth.Defects, vol.16, p.289-304, 1980

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CUPRINS

Prefață 3
I SCURT ISTORIC. GENERALITĂȚI 5
II VITAMINELE LIPOSOLUBILE 9
II.1 Vitaminele A (retinolii, vitaminele antixeroftalmice, vitaminele creșterii) 9
II.1.1 Generalități 9
II.1.2 Structura chimică a provitaminelor și vitaminelor A 10
II.1.3 Stare naturală 16
II.1.4 Proprietățile provitaminelor și vitaminelor A 18
II.1.5 Metabolismul vitaminelor A 18
II.1.6 Sinteza chimică a vitaminei A 22
II.1.7 Rolul biologic al vitaminelor A 23
II.1.8 Unități de activitate vitaminică și necesități nutriționale 26
II.1.9 Tulburări de aport vitaminic 27
II.1.10 Derivați sintetici ai vitaminei A 29
II.1.11 Antivitamine A 31
II.2 Vitaminele D (calciferolii, vitaminele antirahitice) 32
II.2.1 Generalități 32
II.2.2 Structura chimică a provitaminelor și vitaminelor D 33
II.2.3 Stare naturală 37
II.2.4 Metabolismul provitaminelor și vitaminelor D 38
II.2.4.1 Transformarea provitaminelor în vitamine D 38
II.2.4.2 Absorbția intestinală 39
II.2.4.3 Catabolismul și eliminarea calciferolilor și derivaților lor 41
II.2.5 Rolul biologic al calciferolilor 44
II.2.6 Unități de activitate vitaminică. Necesități nutriționale 46
II.2.7 Tulburări de aport vitaminic 47
II.2.8 Antivitamine D 50
II.3 Vitaminele E (tocoferolii, vitaminele antisterilității, vitaminele fertilității, vitaminele de reproducere) 54
II.3.1 Generalități 54
II.3.2 Structura chimică și proprietățile tocoferolilor 54
II.3.3 Stare naturală 58
II.3.4 Sinteza chimică a tocoferolilor 58
II.3.5 Metabolismul tocoferolilor 58
II.3.6 Rolul biologic al tocoferolilor 60

II.3.7 Unități de activitate vitaminică 64
II.3.8 Tulburări de aport vitaminic 64
II.3.9 Substanțe cu acțiune antagonistă tocoferolilor 67
II.4 Vitaminele K (filochinone, vitaminele coagulării, vitamine antihemoragice, factor protrombinic) 68
II.4.1 Generalități 68
II.4.2 Structura chimică și proprietățile vitaminelor K 68
II.4.3 Stare naturală 71
II.4.4 Sinteza chimică a vitaminelor K 71
II.4.5 Metabolismul vitaminelor K 73
II.4.5.1 Absorbția intestinală a vitaminelor K 73
II.4.5.2 Degradarea hepatică a vitaminelor K 74
II.4.6 Rolul biologic al vitaminelor K 74
II.4.6.1 Rolul vitaminelor K în coagularea sîngelui 74
II.4.6.2 Rolul vitaminei K în oxidoreducerile tisulare și alte activități enzimatice 78
II.4.7 Unități de activitate vitaminică 80
II.4.8 Tulburări de aport vitaminic 80
II.4.8.1 Explorarea funcțională a tulburărilor de aport vitaminic 80
II.4..8.2 Hipovitaminoza K 81
II.4.8.3 Hipervitaminoza K 83
II.4.9 Antivitamine K 83
II.5 Vitamina F (acizi grași esențiali) 85
II.5.1 Generalități 85
II.5.2 Structura chimică și proprietățile vitaminei F 85
II.5.3 Stare naturală 86
II.5.4 Metabolismul vitaminei F 87
II.5.5 Rolul biologic al vitaminei F 87
II.5.6 Unități de activitate 90
II.5.7 Tulburări de aport vitaminic 91
III VITAMINELE HIDROSOLUBILE 93
III.1 Vitamina B_1 (tiamina, aneurina, vitamina antiberiberică, vitamina antinevritică) 93
III.1.1 Generalități 93
III.1.2 Structura chimică și proprietățile vitaminei B_1 94
III.1.3 Stare naturală 95
III.1.4 Metabolismul tiaminei 96
III.1.4.1 Absorbția tiaminei 96
III.1.4.2 Fosforilarea tiaminei 96
III.1.4.3 Difuzia tiaminei 97
III.1.4.4 Eliminarea tiaminei 98

III.1.5 Rolul biologic al tiaminei 98
III.1.5.1 Rolul vitaminei B_1 în decarboxilarea a-cetoacizilor 98
III.1.5.2 Rolul vitaminei B_1 în reacțiile de transacetilare 101
III.1.6 Unități de activitate vitaminică 101
III.1.7 Tulburări de aport vitaminic 102
III.1.7.1 Cauzele carenței tiaminice 103
III.1.7.2 Simptomele clinice ale carenței în tiamină 104
III.1.8 Antivitamine B_1 107
III.2 Vitamina B_2 (riboflavina, vitamina G) 109
III.2.1 Generalități 109
III.2.2 Structura chimică și proprietățile riboflavinei 109
III.2.3 Stare naturală 111
III.2.4 Sinteza chimică a riboflavinei 112
III.2.5 Metabolismul riboflavinei 113
III.2.5.1 Absorbția intestinală a riboflavinei 113
III.2.5.2 Transportul plasmatic al riboflavinei 114
III.2.5.3 Eliminarea riboflavinei 114
III.2.5.4 Stocarea și utilizarea riboflavinei 115
III.2.5.5 Controlul tiroidian al metabolismului riboflavinei 115
III.2.6 Rolul biologic al riboflavinei 116
III.2.6.1 Intertransformarea riboflavinei-FMN-FAD 116
III.2.6.2 Rolul coenzimelor flavinice în catena respiratorie 118
III.2.6.3 Rolul cofactorilor flavinici în catabolismul acizilor grași și aminoacizilor 119
III.2.7 Necesarul de vitamină B_2 121
III.2.8 Tulburări de aport vitaminic 121
III.2.9 Antivitamine B_2 123
III.3 Vitamina PP (niacina, nicotinamida, factorul pelagropreventiv, vitamina B_5) 124
III.3.1 Generalități 124
III.3.2 Structura chimică și proprietățile vitaminei PP 125
III.3.3 Stare naturală 126
III.3.4 Metabolismul vitaminei PP 126
III.3.4.1 Absorbția intestinală 126
III.3.4.2 Biosinteza niacinei 127
III.3.4.3 Circulația, repartiția și activarea niacinei 131
III.3.4.4 Catabolismul niacinei 131
III.3.5 Rolul biologic al niacinei 132
III.3.6 Necesarul de vitamină PP 133

III.3.7 Tulburări de aport vitaminic 133
III.3.8 Antivitamine PP 134
III.4 Acidul pantotenic (vitamina B_3) și coenzima A 136
III.4.1 Generalități 136
III.4.2 Structura chimică și proprietățile acidului pantotenic 136
III.4.3 Stare naturală 137
III.4.4 Metabolismul acidului pantotenic 137
III.4.4.1 Biosinteza acidului pantotenic 137
III.4.4.2 Absorbția intestinală și ttansportul acidului pantotenic 140
III.4.4.3 Catabolismul acidului pantotenic 142
III.4.5 Rolul biologic al acidului pantotenic 142
III.4.6 Necesarul de acid pantotenic 142
III.4.7 Tulburări de aport vitaminic 143
III.4.8 Substanțe cu acțiune antagonistă acidului pantotenic 144
III.5 Vitamina B_6 (piridoxina, adermina) 145
III.5.1 Generalități 145
III.5.2 Structura chimică și proprietățile vitaminei B_6 145
III.5.3 Stare naturală 146
III.5.4 Sinteza chimică a vitaminei B_6 147
III.5.5 Metabolismul vitaminei B_6 147
III.5.5.1 Biosinteza vitaminei B_6 147
III.5.5.2 Absorbția intestinală a vitaminei B_6 148
III.5.5.3 Circulația și repartiția în țesuturi 148
III.5.5.4 Activarea vitaminei B_6 sub formă de piridoxalfosfat....149
III.5.5.5 Catabolismul și eliminarea vitaminei B_6 150
III.5.6 Rolul biologic al vitaminei B_6 150
III.5.6.1 Decarboxilarea aminoacizilor 151
III.5.6.2 Transaminarea aminoacizilor 152
III.5.6.3 Alte reacții enzimatice ce au loc cu participarea piridoxalfosfatului 153
III.5.7 Necesarul de vitamină B_6 157
III.5.8 Tulburări de aport vitaminic 157
III.5.8.1 Manifestări clinice și biochimice ale hipovitaminozei B_6 experimentale 158
III.5.8.2 Cauzele hipovitaminozei B_6 158
III.5.8.3 Boli metabolice piridoxalfosfat-dependente 160
III.5.8.4 Hipervitaminoza B_6 161
III.5.9 Antivitamine B_6 161
III.6 Biotina (vitamina H, vitamina B_8, coenzima R) 162
III.6.1 Generalități 162
III.6.2 Structura chimică și proprietățile biotinei 162

III.6.3 Stare naturală 163
III.6.4 Metabolismul biotinei 164
III.6.4.1 Biosinteza biotinei 164
III.6.4.2 Absorbția intestinală 164
III.6.4.3 Circulația biotinei 165
III.6.4.4 Activarea biotinei 165
III.6.4.5 Catabolismul biotinei 167
III.6.5 Rolul biologic al biotinei 167
III.6.5.1 Mecanismul carboxilării biotinei 167
III.6.5.2 Carboxilazele biotin-dependente 168
III.6.6 Necesarul de biotină 170
III.6.7 Tulburări de aport vitaminic 170
III.6.8 Maladii metabolice prin deficit de carboxilaze 171
III.6.9 Antivitamine 172
III.7 Vitamina B_{12} (cobalamina, factor antipernicios) 173
III.7.1 Generalități 173
III.7.2 Structura chimică și proprietățile vitaminei B_{12} 173
III.7.3 Stare naturală 175
III.7.4 Metabolismul cobalaminei 175
III.7.4.1 Biosinteza vitaminei B_{12} 175
III.7.4.2 Absorbția intestinală a vitaminei B_{12} 176
III.7.4.3 Circulația și repartiția tisulară a cobalaminei 176
III.7.5 Rolul biologic al cobalaminei 178
III.7.5.1 Enzime cobalamin-dependente 178
III.7.5.2 Rolul cobalaminei în hematopoieză 180
III.7.5.3 Rolul cobalaminei în sistemul nervos 180
III.7.5.4 Ipoteze fizio-patologice privind rolul cobalaminei 180
III.7.6 Necesarul de cobalamină 181
III.7.7 Tulburări de aport vitaminic 181
III.7.7.1 Simptomatologia clinică a hipovitaminozei B_{12} 181
III.7.7.2 Simptomatologia hematologică a hipovitaminozei B_{12} 182
III.7.7.3 Maladii metabolice ereditare 182
III.7.8 Antivitamine B_{12} 183
III.8 Acidul lipoic (acidul tioctic) 184
III.8.1 Generalități 184
III.8.2 Structura chimică și proprietățile acidului lipoic 184
III.8.3 Sinteza chimică a acidului lipoic 184
III.8.4 Metabolismul acidului lipoic 185
III.8.4.1 Absorbția intestinală 185
III.8.4.2 Biosinteza acidului lipoic 186
III.8.4.3 Catabolismul și eliminarea acidului lipoic 186

III.8.5 Rolul biologic al acidului lipoic 187
III.8.6 Necesarul de acid lipoic 190
III.8.7 Tulburări de aport vitaminic 190
III.9 Acidul folic (acidul pteroilglutamic, vitamina M) 192
III.9.1 Generalități 192
III.9.2 Structura chimică și proprietățile acidului folic 192
III.9.3 Stare naturală 193
III.9.4 Metabolismul acidului folic 193
III.9.4.1 Biosinteza acidului pteridinic 193
III.9.4.2 Biosinteza acidului p-aminobenzoic 193
III.9.4.3 Biosinteza acidului pteroic și acidului folic 194
III.9.5 Rolul biologic al acidului folic 195
III.9.6 Necesarul de acid folic 196
III.9.7 Tulburări de aport vitaminic 196
III.9.8 Substanțe cu acțiune antagonistă acidului folic 196
III.10 Vitamina C (acid ascorbic, vitaminaantiscorbutică) 198
III.10.1 Generalități 198
III.10.2 Structura chimică și proprietățile vitaminei C 198
III.10.3 Stare naturală 199
III.10.4 Metabolismul acidului ascorbic 200
III.10.4.1 Biosinteza vitaminei C 200
III.10.4.2 Absorbția intestinală a acidului ascorbic 202
III.10.4.3 Catabolismul acidului ascorbic 203
III.10.5 Rolul biologic al acidului ascorbic 203
III.10.5.1 Transportul protonilor și electronilor 203
III.10.5.2 Biosinteza colagenului 203
III.10.5.3 Participarea acidului ascorbic la alte reacții de hidroxilare 204
III.10.5.4 Participarea acidului ascorbic la biosinteza carnitinei 205
III.10.5.5 Implicarea vitaminei C în biosinteza catecolaminelor 205
III.10.5.6 Rolul vitaminei C 1n metabolismul mineral 206
III.10.5.7 Rolul vitaminei C în răspunsul endocrin și alergic 207
III.10.5.8 Interacțiunea acidului ascorbic cu radicalii liberi 207
III.10.5.9 Rolul acidului ascorbic în funcțiile imunologice și antibacteriene 208
III.10.6 necesarul de vitamină C 208
III.10.7 Tulburări de aport vitaminic 208
III.10.8 Utilizarea acidului ascorbic în scop terapeutic 209

III.11 Vitamina P (bioflavonoidele, vitamina permeabilității)....210
III.11.1 Generalități 210
III.11.2 Structura chimică și proprietățile vitaminei P 210
III.11.3 Rolul biologic al vitaminei P 211
III.12 Alte substanțe cu acțiune vitaminică....212
III.12.1 Ubichinona (coenzima Q) 212
III.12.2 Mezoinozitolul 213
III.12.3 Colina 213
III.12.4 Alte vitamine ale complexului B 214
IV VITAMINELE ȘI NUTRȚIA 215
IV.1 Aport nutrițional....215
IV.2 Hipovitaminozele la grupurile de risc....216
V. VITAMINOTERAPIA 221
V.1 Vitaminele și interacțiunile medicamentoase....221
V.1.1 Tratamentul antituberculos 221
V.1.2 Tratamentul anticonvulsivant 222
VI VITAMINELE ȘI CANCERUL 225
BIBLIOGRAFIE 227

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CONTENS

Preface 3
I. Introduction 5
II. Fat-soluble Vitamins 9
II.1 Vitamins A (Retinols, Antixerophtalami Vitamins, Growth Vitamins) 9
II.1.1 Overviews 9
II.1.2 Chemical Structure of Previtamins A and Vitamins A 10
II.1.3 Natural State 16
II.1.4 Chemical Properties of Previtamins and Vitamins A 18
II.1.5 Metabolism of Vitamins A 18
II.1.6 Chemical Sythesis of Vitamins A 22
II.1.7 Biological Functions of Vitamins A 23
II.1.8 Vitaminic A Activity Units and Nutritive Requirements 26
II.1.9 Vitamin A Deficiency 27
II.1.10 Synthetic Derivates of Vitamin A 29
II.1.11 Antivitamins A 31
II.2 Vitamins D (Calciferols, Antirahitic Vitamins) 32
II.2.1 Overviews 32
II.2.2 Chemical Structure of Previtamins D and Vitamins D 33
II.2.3 Natural State 37
II.2.4 Metabolism of Previtamins D and Vitamins D 38
II.2.4.1 Transforming of Previtamins D into Vitamins D 38
II.2.4.2 Intestinal Absorption 39
II.2.4.3 Catabolism and Elimination of Calciferols and their Derivates 41
II.2.5 Biological Function of Calciferols 44
II.2.6 Vitaminic Activity Units and Nutritional Requirements 46
II.2.7 Vitamin D Deficiency 47
II.2.8 Antivitamins D 50
II.3 Vitamins E (Tocopherols, Anti-sterility Vitamins, Fertility Vitamins, Reproduction Vitamins) 54
II.3.1 Overviews 54
II.3.2 Chemical Structure and Properties of Tocopherols 54
II.3.3 Natural State 58
II.3.5 Chemicals Synthesis of Tocopherols 58
II.3.6 Biological Function of Tocopherols 60
II.3.7 Vitaminic Activity Units 64
II.3.8 Vitamin E Deficiency 64
II.3.9 Substances with Antagonistic Action against Tocopherols 67

II.4 Vitamins K (Phylloquinone, Coagulation Vitamins, Antihemorrhagic, Prothrombin Factor).....68
II.4.1 Overviews 68
II.4.2 Chemical Structure and Properties of Vitamins K 68
II.4.3 Natural State 71
II.4.4 Metabolism of Vitamins K 71
II.4.5.1 Intestinal Absorbtion of Vitamins K 73
II.4.5.2 Hepatic Catabolism of Vitamin K 73
II.4.6 Biological Function of Vitamin K 74
II.4.6.1 Function of Vitamins K in the Blood Coagulation.....74
II.4.6.2 Function of Vitamins K in the Tissue Oxido-reducing Processes and other Enzymatic Activity.....78
II.4.7 Vitaminic Activity Units 80
II.4.8 Vitamin K Deficiency 80
II.4.8.1 Functional Investigation of Vitamin Deficiency 80
II.4.8.2 Hypovitaminose K 81
II.4.8.3 Hypervitaminose K.....83
II.4.9 Antivitamins K 83
II.5 Vitamin F (Essential Fatty Acids).....85
II.5.1 Overviews 85
II.5.2 Chemical Structure and Properties of Vitamin F 85
II.5.3 Natural State 86
II.5.4 Metabolism of Vitamin F 87
II.5.5 Biological Function of Vitamin F 87
II.5.6 Vitaminic Activity Units 90
II.5.7 Vitamin F Deficiency 91
III. Water-soluble Vitamins.....93
III.1 Vitamin B_1 (Thiamin, Aneurin, Anti-beriberi Vitamin, Antinervitic Vitamin) 93
III.1.1 Overviews 93
III.1.2 Chemical Structure and Properties of Vitamin B_1 94
III.1.3 Natural State 95
III.1.4 Metabolism of Vitamin B_1 96
III.1.4.1 Thiamin Absorbtion 96
III.1.4.2 Thiamin Phosphorylation 96
III.1.4.3 Thiamin Diffusion 97
III.1.4.4 Thiamin Elimination 98
III.1.5 Biological Function of Thiamin 98
III.1.5.1 Function of Vitamin B_1 in a-Ketoacids Decarboxylation 98
III.1.5.2 Function of Vitamin B_1 in Transacetylation Processes 101
III.1.6 Vitaminic Activity Units 101

III.1.7 Thiamin Deficiency 102
III.1.7.1 Causes of Thiamin Deficiency 103
III.1.7.2 Clinical Symptoms of Thiamin Deficiency 104
III.1.8 Antivitamin B_1 107
III.2 Vitamin B_2 (Riboflavin, Vitamin G) 109
III.2.1 Overviews 109
III.2.2 Chemical Structure and Properties of Riboflavine 109
III.2.3 Natural State 111
III.2.4 Chemical Synthesis of Riboflavine 112
III.2.5 Metabolism of Riboflavine 113
III.2.5.1 Intestinal Absorption of Riboflavine 113
III.2.5.2 Plasmatic Transport of Riboflavine 114
III.2.5.3 Elimination of Riboflavine 114
III.2.5.4 Storage and Utilization of Riboflavine 115
III.2.5.5 Thyroid Regulation of Riboflavine Metabolism 115
III.2.6 Biological Function of Riboflavine 116
III.2.6.1 Intertransformation Riboflavine-FMN-FAD 116
III.2.6.2 Function of Flavin Coenzymes in the Respiratory Chain 118
III.2.6.3 Function of Flavine Cofactors in the Catabolism of Fatty Acids and Amino Acids 119
III.2.7 Requirements of Vitamin B_2 121
III.2.8 Vitamin B_2 Deficiency 121
III.2.9 Antivitamins B_2 123
III.3 Vitamin PP (Niacin, Nicotinamide, Pellagra-Prophylactic Factor, Vitamin B_5) 124
III.3.1 Overviews 124
III.3.2 Chemical Structure and Properties of Vitamin PP 125
III.3.3 Natural State 126
III.3.4 Metabolism of Vitamin PP 126
III.3.4.1 Intestinal Absorption 126
III.3.4.2 Biosynthesis of Niacin 127
III.3.4.3 Circulation, Distribution and Activation of Niacin 131
III.3.4.4 Catabolism of Niacino 131
III.3.5 Biological Function of Niacine 132
III.3.6 Requirements of Niacin 133
III.3.7 Niacin Deficiency 133
III.3.8 Antivitamins PP 134
III.4 Pantothenic Acid (Vitamin B_3) and Coenzyme A 136
III.4.1 Overviews 136
III.4.2 Chemical Structure and Properties of Pantothenic Acid 137
III.4.3 Natural State 137

III.4.4 Metabolism of Pantothenic Acid 137
III.4.4.1 Biosynthesis of Pantothenic Acid 137
III.4.4.2 Intestinal Absorption and Transport of Pantothenic Acid 140
III.4.4.3 Catabolism of Pantothenic Acid 142
III.4.5 Biological Function of Pantothenic Acid 142
III.4.6 Requirements of Pantothenic Acid 142
III.4.7 Pantothenic Acid Deficiency 143
III.4.8 Substances with Antagonistic Action against Pantothenic Acid 144
III.5 Vitamin B_6 (Pyridoxine, Adermine) 145
III.5.1 Overviews 145
III.5.2 Chemical Structure and Properties of Vitamin B_6 145
III.5.3 Natural State 146
III.5.4 Chemical Synthesis of Vitamin B_6 147
III.5.5 Metabolism of Vitamin B_6 147
III.5.5.1 Biosynthesis of Vitamin B_6 147
III.5.5.2 Intestinal Absorption of Vitamin B_6 148
III.5.5.3 Circulation and Distribution in the Tissue of Vitamin B_6 148
III.5.5.4 Catabolism and Elimination of Vitamin B_6 149
III.5.6 Biological Function of Vitamin B_6 150
III.5.6.1 Decarboxylation of Amino Acids 151
III.5.6.2 Transamination of Amino Acids 152
III.5.6.3 Other Enzyme Reactions with Participation of Pyridoxal Phosphate 153
III.5.7 Requirements of Vitamin B_6 157
III.5.8 Vitamin B_6 Deficiency 157
III.5.8.1 Clinical and Biochemical Manifestations of Experimental Hypovitaminose B_6 158
III.5.8.2 Causes of Hypovitaminose B_6 158
III.5.8.3 Metabolic Diseases Depending of Pyridoxal Phosphate 160
III.5.8.4 Hypervitaminose B_6 161
III.5.9 Antivitamins B_6 161
III.6 Biotin (Vitamin H, Vitamin B_8, Coenzyme R) 162
III.6.1 Overviews 162
III.6.2 Chemical Structure and Properties of Biotin 162
III.6.3 Natural State 163
III.6.4 Metabolism of Biotin 164
III.6.4.1 Biosynthesis of Biotin 164
III.6.4.2 Intestinal Absorption 164
III.6.4.3 Circulation of Biotin 165
III.6.4.4 Activation of Biotin 165

III.6.4.5 Catabolism of Biotin 167
III.6.5 Biological Function of Biotin 167
III.6.5.1 Mechanism of Biotin Carboxylation 167
III.6.5.2 Biotin Depending Carboxylases 168
III.6.6 Requirements of Biotin 170
III.6.7 Biotin Deficiency 170
III.6.8 Metabolic Diseases by the Carboxylase Deficiency 171
III.6.9 Antivitamins 172
III.7 Vitamin B_{12} (Cobalamin, Antipernicious Factor) 173
III.7.1 Overviews 173
III.7.2 Chemical Structure and Properties of Vitamin B_{12} 173
III.7.3 Natural State 175
III.7.4 Metabolism of Cobalamin 175
III.7.4.1 Biosynthesis of Vitamin B_{12} 175
III.7.4.2 Intestinal Absorption of Vitamin B_{12} 176
III.7.4.3 Circulation and Tissue Distribution of Cobalamin 176
III.7.5 Biological Function of Cobalamin 178
III.7.5.1 Cobalamin Depending Enzymes 178
III.7.5.2 Function of Cobalamin in the Hematopoesis 180
III.7.5.3 Function of Cobalamin in the Nervous System 180
III.7.5.4 Physiopathological Hypothesis on the Cobalamin Function 180
III.7.6 Requirements of Cobalamin 181
III.7.7 Cabalamin Deficiency 181
III.7.7.1 Clinical Symptomatology of Hypovitaminose B_{12} 181
III.7.7.2 Hematological Symptomatology of Hypovitaminose B_{12} 182
III.7.7.3 Hereditary Metabolic Diseases 182
III.7.8 Antivitamins B_{12} 183
III.8 Lipoic Acid (Tioctic Acid) 184
III.8.1 Overviews 184
III.8.2 Chemical Structure and Properties of Lipoic Acid 184
III.8.3 Chemical Synthesis of Lipoic Acid 184
III.8.4 Metabolism of Lipoic Acid 185
III.8.4.1 Intestinal Absorption 185
III.8.4.2 Biosynthesis of Lipoic Acid 186
III.8.4.3 Catabolism and Elimination of Lipoic Acid 186
III.8.5 Biological Function of Lipoic Acid 187
III.8.6 Requirements of Lipoic Acid 190
III.8.7 Lipoic Acid Deficiency 190
III.9 Folic Acid (Pteroylglutamic Acid, Vitamin M) 192
III.9.1 Overviews 192
III.9.2 Chemical Structure and Properties of Folic Acid 192

III.9.3 Natural State 193
III.9.4 Metabolism of Folic Acid 193
III.9.4.1 Biosynthesis of Pteridin Cycle 193
III.9.4.2 Biosynthesis of p-Aminobenzoic Acid 193
III.9.4.3 Biosynthesis of Pteroic and Folic Acid 194
III.9.5 Biological Function of Folic Acid 195
III.9.6 Requirements of Folic Acid 196
III.9.7 Folic Acid Deficiency 196
III.9.8 Substances with Antagonistic Action against Folic Acid 196
III.10 Vitamin C (Ascorbic Acid, Antiscorbutic Vitamin) 198
III.10.1 Overviews 198
III.10.2 Chemical Structure and Properties of Vitamin C 198
III.10.3 Natural State 199
III.10.4 Metabolism of Ascorbic Acid 200
III.10.4.1 Biosynthesis of Vitamin C 200
III.10.4.2 Intestinal Absorption of Ascorbic Acid 202
III.10.4.3 Catabolism of Ascorbic Acid 203
III.10.5 Biological Function of Ascorbic Acid 203
III.10.5.1 Transport of Electrons and Protons 203
III.10.5.2 Biosynthesis of Collagen 203
III.10.5.3 Participation of Ascorbic Acid to other Hydroxylation Reactions 204
III.10.5.4 Participation of Ascorbic Acid to the Carnitine Biosynthesis 205
III.10.5.5 Participation of Vitamin C to the Catecholamines Biosynthesis 205
III.10.5.6 Function of Vitamin C to the Inorganic Metabolism 206
III.10.5.7 Function of Vitamin C to the Endocrine and Allergic Response 207
III.10.5.8 Interaction of Ascorbic Acid with the Free Radicals 207
III.10.5.9 Role of Ascorbic Acid to the Immune and Antibacterial Functions 208
III.10.6 Requirements of Vitamin C 208
III.10.7 Vitamin C Deficiency 208
III.10.8 Utilization of Ascorbic Acid in the Therapeutics 209
III.11 Vitamin P (Bioflavonoids, Permiability Vitamin) 210
III.11.1 Overviews 210
III.11.2 Chemical Structure and Properties of Vitamin P 210
III.11.3 Biological Function of Vitamin P 211
III.12 Other Substances with the Vitamin Action 212
III.12.1 Ubiquinone (Coenzyme Q) 212

III.12.2 Mesoinositol 213
III.12.3 Coline 213
III.12.4 Other Vitamins of Complex B 214
IV Vitamins and Nutrition 215
IV.1 Nutrition Contribution 215
IV.2 Hypovitaminoses 216
V Vitamintherapy 221
V.1 Vitamins and Medicinal Interactions 221
V.1.1 Antiphtisical Therapy 221
V.1.2 Anticonvulsive Therapy 222
VI Vitamins and Cancer 225
Bibliography 227

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Tipărit sub comanda 109
S.C. „Dosoftei" S.A. Iaşi
str. Sf. Lazăr nr. 49

BCU IAŞI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Lucrarea *BIOCHIMIA VITAMINELOR* se adresează studenților de la specializările: Biochimie, Biotehnologie, Chimie bioorganică, Biologie, Ecologie, Medicină, Agronomie, precum și cadrelor didactice și cercetătorilor cu preocupări în domeniu.

Lucrarea reprezintă o sistematizare a datelor științifice din literatura de specialitate din România și străinătate privind structura chimică a vitaminelor, rolul lor biologic, absorbția, biosinteza și catabolismul acestora, sinteza chimică a unor vitamine, simptomele clinice ale hipo- și hipervitaminozelor, necesitățile zilnice pentru un om în funcție de sex, vârstă și stare fizio-patologică etc.

O atenție deosebită se acordă rolului coenzimatic al vitaminelor hidrosolubile și transformărilor biochimice la care acestea participă.

Prof.dr. Vlad ARTENIE
Universitatea "Al.I. Cuza" Iași

ISBN 973-96339-0-0 **LEI 9900**

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY